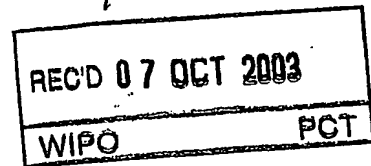


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



EP03/09452



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 39 073.8

Anmeldetag: 26. August 2002

Anmelder/Inhaber: BASF AG, Ludwigshafen/DE

Bezeichnung: Verfahren zur fermentativen Herstellung schwefelhaltiger Feinchemikalien

IPC: C 12 P, C 07 C, A 23 K

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 11. September 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag


Stanschus

Beschreibung

5 Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für ein Homoserin-O-Acetyl-Transferase (metA)-Gen kodierende Nukleotidsequenzen exprimiert wird.

Stand der Technik

10 Schwefelhaltige Feinchemikalien, wie zum Beispiel Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, Glutathion, Cystein, Biotin, Thiamin, Liponsäure werden über natürliche Stoffwechselprozesse in Zellen hergestellt und werden in vielen Industriezweigen verwendet, einschließlich der Nahrungsmittel-, Futtermittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie. Diese Substanzen, die zusammen als "schwefelhaltige Feinchemikalien" bezeichnet werden, umfassen
15 organische Säuren, sowohl proteinogene als auch nicht-proteinogene Aminosäuren, Vitamine und Cofaktoren. Ihre Produktion erfolgt am zweckmäßigsten im Großmaßstab mittels Anzucht von Bakterien, die entwickelt wurden, um große Mengen der jeweils gewünschten Substanz zu produzieren und sezernieren. Für diesen Zweck besonders geeignete Organismen sind coryneforme Bakterien, gram-positive nicht-pathogene Bakterien.

20 Es ist bekannt, dass Aminosäuren durch Fermentation von Stämmen coryneformer Bakterien, insbesondere Corynebacterium glutamicum, hergestellt werden. Wegen der großen Bedeutung wird ständig an der Verbesserung der Herstellverfahren gearbeitet. Verfahrensverbesserungen können fermentationstechnische Maßnahmen, wie zum Beispiel Rührung und Versorgung mit
25 Sauerstoff, oder die Zusammensetzung der Nährmedien, wie zum Beispiel die Zuckerkonzentration während der Fermentation, oder die Aufarbeitung zum Produkt, beispielsweise durch Ionenaustauschchromatographie, oder die intrinsischen Leistungseigenschaften des Mikroorganismus selbst betreffen.

30 Über Stammselektion sind eine Reihe von Mutantenstämmen entwickelt worden, die ein Sortiment wünschenswerter Verbindungen aus der Reihe der schwefelhaltigen Feinchemikalien produzieren. Zur Verbesserung der Leistungseigenschaften dieser Mikroorganismen hinsichtlich der Produktion eines bestimmten Moleküls werden Methoden der Mutagenese, Selektion und Mut-

antenauswahl angewendet. Dies ist jedoch ein zeitaufwendiges und schwieriges Verfahren. Auf diese Weise erhält man z.B. Stämme, die resistent gegen Antimetabolite, wie z. B. die Methionin-Analoga α -Methyl-Methionin, Ethionin, Norleucin, N-Acetylnorleucin, S-Trifluoromethylhomocystein, 2-Amino-5-heprenoitsäure, Seleno-Methionin, Methioninsulfoximin, Methoxin, 1-Aminocyclopentan-Carboxylsäure oder auxotroph für regulatorisch bedeutsame Metabolite sind und schwefelhaltige Feinchemikalien, wie z. B. L-Methionin, produzieren.

Seit einigen Jahren werden ebenfalls Methoden der rekombinanten DNA-Technik zur Stammverbesserung von L-Aminosäure produzierender Stämme von Corynebacterium eingesetzt, indem man einzelne Aminosäure-Biosynthesegene amplifiziert und die Auswirkung auf die Aminosäure-Produktion untersucht.

Kurze Beschreibung der Erfindung

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, ein neues Verfahren zur verbesserten fermentativen Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, bereitzustellen.

Gelöst wird obige Aufgabe durch Bereitstellung eines Verfahrens zur fermentativen Herstellung einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, umfassend die Expression einer heterologen Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, in einem coryneformen Bakterium.

Ein erster Gegenstand der Erfindung ist Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:

- a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird, welche für ein Protein mit Homoserin-O-Acetyl-Transferase (metA) –Aktivität kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie, welche vorzugsweise L-Methionin umfasst.

Vorzugsweise besitzt obige heterologe metA-kodierende Nukleotidsequenz zur metA-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 eine Sequenzhomologie von weniger als 100% und vorzugsweise von mehr als 70% aufweist. Die metA-kodierende Sequenz ist vorzugsweise aus einem der folgenden Organismen von Liste I abgeleitet:

5

Liste I

| | |
|---|------------|
| <i>Corynebacterium diptheriae</i> | ATCC 14779 |
| <i>Mycobacterium leprae</i> | ATCC 43910 |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551 | ATCC 25584 |
| <i>Chlorobium tepidum</i> | ATCC 49652 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 17933 |
| <i>Caulobacter crescentus</i> | ATCC 19089 |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | ATCC 53420 |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | ATCC 53414 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | ATCC 13525 |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | ATCC 25416 |
| <i>Nitrosomonas europaea</i> | ATCC 19718 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | ATCC 51907 |
| <i>Halobacterium</i> sp NRC1 | ATCC 33170 |
| <i>Thermus thermophilus</i> | ATCC 27634 |
| <i>Deinococcus radiodurans</i> | ATCC 13939 |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | ATCC 10751 |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | ATCC 24969 |
| <i>Xylella fastidiosa</i> | ATCC 35881 |
| <i>Emmericella nidulans</i> | ATCC 36104 |
| <i>Mesorhizobium loti</i> | ATCC 35173 |
| <i>Acremonium crysogenum</i> | ATCC 11550 |
| <i>Pseudomonas putida</i> | ATCC 47054 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 35556 |

ATCC: American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA

- 10 Die erfindungsgemäß eingesetzte metA-kodierende Sequenz umfasst vorzugsweise eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 und 45 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, umfasst.
- 15 Die erfindungsgemäß eingesetzte metA-kodierende Sequenz kodiert außerdem vorzugsweise für ein Protein mit metA-Aktivität, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 und 46 oder

eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität steht, umfasst.

- 5 Die kodierende metA-Sequenz ist vorzugsweise eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt, indem man

- 10 a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metA-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metA-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde

- 15 Es ist weiterhin bevorzugt, die kodierende metA-Sequenz für die Fermentation zu überexprimieren.

- 20 Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist; und / oder

in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

- 25 Außerdem kann es wünschenswert sein, Bakterien zu fermentieren, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie durch Stoffwechselmetabolite in seiner Aktivität nicht in unerwünschter Weise beeinflusst wird.

- 30 Gemäß einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden deshalb coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen lysC,
b) dem für eine Aspartat-Semialdehyd-Dehydrogenase kodierenden Gen asd

- 5
- c) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen gap,
 - d) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen pgk,
 - e) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen pyc,
 - f) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen tpi,
 - g) dem für die Methionin Synthase kodierenden Gen methH,
 - h) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen metB,
 - i) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen metC,
 - j) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen glyA,
 - k) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierenden Gen metY,
 - l) dem für die Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase kodieren Gen, metF
 - m) dem für die Phosphoserin-Aminotransferase kodieren Gen serC
 - n) dem für die Phosphoserin-Phosphatase kodieren Gen serB,
 - o) dem für die Serine Acetyl-Transferase kodieren Gen cysE,
 - p) dem für die Homoserin-Dehydrogenase kodieren Gen hom,

15 überexprimiert ist.

20 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene ausgewählt unter Genen der oben genannten Gruppe a) bis p) mutiert ist, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden und dass insbesondere die erfindungsgemäße Produktion der Feinchemikalie nicht beeinträchtigt wird.

25 Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- 30
- q) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,
 - r) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,
 - s) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC
 - t) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh
 - u) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,
 - v) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgi,
 - w) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,
 - x) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen dapA,

- y) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen *dapB*; oder
- z) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen *lysA*

abschwächt ist, insbesondere durch Verringerung der Expressionsrate des korrespondierenden Gens.

5

Gemäß einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens werden coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene der obigen Gruppen q) bis z) mutiert ist, so dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird.

10

Vorzugsweise werden in dem erfindungsgemäßen Verfahren Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* eingesetzt.

15

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin-haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst

- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
- b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
- c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
- d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.

20

25

Gegenstand der Erfindung sind ebenfalls die erstmalig aus obigen Mikroorganismen isolierten kodierenden *metA*-Sequenzen, die davon kodierten Homoserin-O-Acetyl-Transferase sowie die funktionalen Homologen dieser Polynukleotide bzw. Proteine.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

- 30 a) Allgemeine Begriffe

Als Proteine mit der Aktivität der Homoserin-O-Acetyl-Transferase auch *metA* (EC 2.3.1.31) genannt, werden solche Proteine beschrieben, die in der Lage sind Homoserin und Acetyl-Co-

EnzymA zu O-Acetyl-Homoserin umzusetzen. Der Fachmann unterscheidet die Aktivität der Homoserin-O-Acetyl-Transferase von der Homoserin-O-Succinyl-Transferase, die in der Literatur aber auch metA genannt wird. In dem letztgenannten Enzym dient Succinyl-Coenzym A und nicht Acetyl-Coenzym A als Substrat der Reaktion. Der Fachmann kann die enzymatische Aktivität von Homoserin-O-Acetyl-Transferase durch Enzymtests nachweisen, Vorschriften dafür können sein: Park SD. Lee JY. Kim Y. Kim JH. Lee HS. Molecules & Cells. 8(3):286-94, 1998.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfasst der Begriff „schwefelhaltige Feinchemikalie“ jegliche chemische Verbindung, die wenigstens ein Schwefelatom kovalent gebunden enthält und durch ein erfindungsgemäßes Fermentationsverfahrens zugänglich ist. Nichtlimitierende Beispiele dafür sind Methionin, Homocystein, S-Adenosyl-Methionin, insbesondere Methionin, und S-Adenosyl-Methionin.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung umfassen die Begriffe „L-Methionin“, „Methionin“, Homocystein und S-Adenosylmethionin auch die korrespondierenden Salze, wie z. B. Methionin-Hydrochlorid oder Methionin-Sulfat.

„Polynukleotide“ bezeichnet im allgemeinen Polyribonukleotide (RNA) und Polydeoxyribonukleotide (DNA), wobei es sich um nicht modifizierte RNA oder DNA oder modifizierte RNA oder DNA handeln kann.

Unter „Polypeptiden“ versteht man erfindungsgemäß Peptide oder Proteine, die zwei oder mehr über Peptidbindungen verbundene Aminosäuren enthalten.

Der Begriff „Stoffwechselmetabolit“ bezeichnet chemische Verbindungen, die im Stoffwechsel von Organismen als Zwischen- oder auch Endprodukte vorkommen und die neben ihrer Eigenschaft als chemische Bausteine auch modulierende Wirkung auf Enzyme und ihre katalytische Aktivität haben können. Dabei ist aus der Literatur bekannt, dass solche Stoffwechselmetabolite sowohl hemmend als auch stimulierend auf die Aktivität von Enzymen wirken können (Biochemistry, Stryer, Lubert, 1995 W. H. Freeman & Company, New York, New York.). In der Literatur ist auch beschrieben, dass es möglich ist durch Maßnahmen wie Mutation der genomischen DNA durch UV-Strahlung, ionisierender Strahlung oder mutagene Substanzen und nachfolgender Selektion auf bestimmte Phänotypen in Organismen solche Enzyme zu produzieren, in de-

nen die Beeinflussung durch Stoffwechselmetabolite verändert wurde (Sahm H. Eggeling L. de Graaf AA. Biological Chemistry 381(9-10):899-910, 2000; Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94). Diese veränderten Eigenschaften können auch durch gezielte Maßnahmen erreicht werden. Dabei ist dem Fachmann bekannt, dass in Gene für Enzyme auch gezielt bestimmte Nukleotide der für das Protein kodierenden DNA so zu verändern, dass das aus der exprimierten DNA-Sequenz resultierende Protein bestimmte neue Eigenschaften aufweist, so zum Beispiel, dass die modulierende Wirkung von Stoffwechselmetaboliten gegenüber dem nicht veränderten Protein verändert ist

- 5 Die Begriffe "exprimieren" bzw. "Verstärkung" oder „Überexpression“ beschreiben im Kontext der Erfindung die Produktion bzw. Erhöhung der intrazellulären Aktivität eines oder mehrerer Enzyme in einem Mikroorganismus, die durch die entsprechende DNA kodiert werden. Dazu kann man beispielsweise ein Gen in einen Organismus einbringen, ein vorhandenes Gen durch ein anderes Gen ersetzen, die Kopienzahl des Gens bzw. der Gene erhöhen, einen starken Promotor verwenden oder ein Gen verwenden, das für ein entsprechendes Enzym mit einer hohen Aktivität kodiert und man kann gegebenenfalls diese Maßnahmen kombinieren.

b) Erfindungsgemäße metA-Proteine

- 20 Erfindungsgemäß mit umfasst sind ebenfalls „funktionale Äquivalente“ der konkret offenbarten metA-Enzyme aus Organismen obiger Liste I.

- 25 „Funktionale Äquivalente“ oder Analoga der konkret offenbarten Polypeptide sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung davon verschiedene Polypeptide, welche weiterhin die gewünschte biologische Aktivität, wie z.B. Substratspezifität, besitzen.

- 30 Unter "funktionalen Äquivalenten" versteht man erfindungsgemäß insbesondere Mutanten, welche in wenigstens einer der oben genannten Sequenzpositionen eine andere als die konkret genannte Aminosäure aufweisen aber trotzdem eine der oben genannten biologische Aktivität besitzen. "Funktionale Äquivalente" umfassen somit die durch eine oder mehrere Aminosäure-Additionen, -Substitutionen, -Deletionen und/oder -Inversionen erhältlichen Mutanten, wobei die genannten Veränderungen in jeglicher Sequenzposition auftreten können, solange sie zu einer Mutante mit dem erfindungsgemäßen Eigenschaftsprofil führen. Funktionale Äquivalenz ist ins-

besondere auch dann gegeben, wenn die Reaktivitätsmuster zwischen Mutante und unverändertem Polypeptid qualitativ übereinstimmen, d.h. beispielsweise gleiche Substrate mit unterschiedlicher Geschwindigkeit umgesetzt werden.

- 5 "Funktionale Äquivalente" umfassen natürlich auch Polypeptide welche aus anderen Organismen zugänglich sind, sowie natürlich vorkommende Varianten. Beispielsweise lassen sich durch Sequenzvergleich Bereiche homologer Sequenzregionen festlegen und in Anlehnung an die konkreten Vorgaben der Erfindung äquivalente Enzyme ermitteln.

- 10 „Funktionale Äquivalente“ umfassen ebenfalls Fragmente, vorzugsweise einzelne Domänen oder Sequenzmotive, der erfindungsgemäßen Polypeptide, welche z.B. die gewünschte biologische Funktion aufweisen.

- 15 „Funktionale Äquivalente“ sind außerdem Fusionsproteine, welche ein der oben genannten Polypeptidsequenzen oder davon abgeleitete funktionale Äquivalente und wenigstens eine weitere, davon funktionell verschiedene, heterologe Sequenz in funktioneller N- oder C-terminaler Verknüpfung (d.h. ohne gegenseitigen wesentliche funktionelle Beeinträchtigung der Fusionsproteinteile) aufweisen. Nichtlimitierende Beispiele für derartige heterologe Sequenzen sind z.B. Signalpeptide, Enzyme, Immunoglobuline, Oberflächenantigene, Rezeptoren oder Rezeptorliganden.
- 20

- 25 Erfindungsgemäß mit umfasste „funktionale Äquivalente“ sind Homologe zu den konkret offenbarten Proteinen. Diese besitzen wenigstens 20%, oder etwa 30%, 40%, 50 %, vorzugsweise wenigstens etwa 60 %, 65%, 70%, oder 75% ins besondere wenigsten 85 %, wie z.B. 90%, 95% oder 99%, Homologie zu einer der konkret offenbarten Sequenzen, berechnet nach dem Algorithmus von Pearson und Lipman, Proc. Natl. Acad, Sci. (USA) 85(8), 1988, 2444-2448.

- 30 Homologe der erfindungsgemäßen Proteine oder Polypeptide können durch Mutagenese erzeugt werden, z.B. durch Punktmutation oder Verkürzung des Proteins. Der Begriff "Homolog", wie er hier verwendet wird, betrifft eine variante Form des Proteins, die als Agonist oder Antagonist der Protein-Aktivität wirkt.

Homologe des erfindungsgemäßen Proteine können durch Screening kombinatorischer Banken von Mutanten, wie z.B. Verkürzungsmutanten, identifiziert werden. Beispielsweise kann eine variierte Bank von Protein-Varianten durch kombinatorische Mutagenese auf Nukleinsäureebene erzeugt werden, wie z.B. durch enzymatisches Ligieren eines Gemisches synthetischer Oligonukleotide. Es gibt eine Vielzahl von Verfahren, die zur Herstellung von Banken potentieller Homologer aus einer degenerierten Oligonukleotidsequenz verwendet werden können. Die chemische Synthese einer degenerierten Gensequenz kann in einem DNA-Syntheseautomaten durchgeführt werden, und das synthetische Gen kann dann in einen geeigneten Expressionsvektor ligiert werden. Die Verwendung eines degenerierten Gensatzes ermöglicht die Bereitstellung sämtlicher Sequenzen in einem Gemisch, die den gewünschten Satz an potentiellen Proteinsequenzen codieren. Verfahren zur Synthese degenerierter Oligonukleotide sind dem Fachmann bekannt (Z.B. Narang, S.A. (1983) Tetrahedron 39:3; Itakura et al. (1984) Annu. Rev. Biochem. 53:323; Itakura et al., (1984) Science 198:1056; Ike et al. (1983) Nucleic Acids Res. 11:477).

Zusätzlich können Banken von Fragmenten des Protein-Codons verwendet werden, um eine variierte Population von Protein-Fragmenten zum Screening und zur anschließenden Selektion von Homologen eines erfindungsgemäßen Proteins zu erzeugen. Bei einer Ausführungsform kann eine Bank von kodierenden Sequenzfragmenten durch Behandeln eines doppelsträngigen PCR-Fragmentes einer kodierenden Sequenz mit einer Nuklease unter Bedingungen, unter denen ein Nicking nur etwa einmal pro Molekül erfolgt, Denaturieren der doppelsträngigen DNA, Renaturieren der DNA unter Bildung doppelsträngiger DNA, die Sense-/Antisense-Paare von verschiedenen genickten Produkten umfassen kann, Entfernen einzelsträngiger Abschnitte aus neu gebildeten Duplices durch Behandlung mit S1-Nuclease und Ligieren der resultierenden Fragmentbank in einen Expressionsvektor erzeugt werden. Durch dieses Verfahren kann eine Expressionsbank hergeleitet werden, die N-terminale, C-terminale und interne Fragmente mit verschiedenen Größen des erfindungsgemäßen Proteins kodiert.

Im Stand der Technik sind mehrere Techniken zum Screening von Genprodukten kombinatorischer Banken, die durch Punktmutationen oder Verkürzung hergestellt worden sind, und zum Screening von DNA-Banken auf Genprodukte mit einer ausgewählten Eigenschaft bekannt. Diese Techniken lassen sich an das schnelle Screening der Genbanken anpassen, die durch kombinatorische Mutagenese von erfindungsgemäßer Homologer erzeugt worden sind. Die am häufig-

figsten verwendeten Techniken zum Screening großer Genbanken, die einer Analyse mit hohem Durchsatz unterliegen, umfassen das Klonieren der Genbank in replizierbare Expressionsvektoren, Transformieren der geeigneten Zellen mit der resultierenden Vektorenbank und Exprimieren der kombinatorischen Gene unter Bedingungen, unter denen der Nachweis der gewünschten Aktivität die Isolation des Vektors, der das Gen codiert, dessen Produkt nachgewiesen wurde, erleichtert. Recursive-Ensemble-Mutagenese (REM), eine Technik, die die Häufigkeit funktioneller Mutanten in den Banken vergrößert, kann in Kombination mit den Screeningtests verwendet werden, um Homologe zu identifizieren (Arkin und Yourvan (1992) PNAS 89:7811-7815; Delgrave et al. (1993) Protein Engineering 6(3):327-331

10 c) Erfindungsgemäße Polynukleotide

Gegenstand der Erfindung sind ebenso Nukleinsäuresequenzen (einzel- und doppelsträngige DNA- und RNA-Sequenzen, wie z.B. cDNA und mRNA), kodierend für eines der obigen metA-Enzyme und deren funktionalen Äquivalenten, welche z.B. auch unter Verwendung künstlicher Nukleotidanaloga zugänglich sind.

Die Erfindung betrifft sowohl isolierte Nukleinsäuremoleküle, welche für erfindungsgemäße Polypeptide bzw. Proteine oder biologisch aktive Abschnitte davon kodieren, sowie Nukleinsäurefragmente, die z.B. zur Verwendung als Hybridisierungs sonden oder Primer zur Identifizierung oder Amplifizierung von erfindungsgemäßer kodierenden Nukleinsäuren verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle können zudem untranslatierte Sequenzen vom 3'- und/oder 5'-Ende des kodierenden Genbereichs enthalten

Ein "isoliertes" Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure zugegen sind und kann überdies im wesentlichen frei von anderem zellulären Material oder Kulturmedium sein, wenn es durch rekombinante Techniken hergestellt wird, oder frei von chemischen Vorstufen oder anderen Chemikalien sein, wenn es chemisch synthetisiert wird.

Die Erfindung umfasst weiterhin die zu den konkret beschriebenen Nukleotidsequenzen kom-

plementären Nukleinsäuremoleküle oder einen Abschnitt davon.

Die erfindungsgemäß Nukleotidsequenzen ermöglichen die Erzeugung von Sonden und Primern, die zur Identifizierung und/oder Klonierung von homologer Sequenzen in anderen Zelltypen und Organismen verwendbar sind. Solche Sonden bzw. Primer umfassen gewöhnlich einen Nukleotidsequenzbereich, der unter stringenten Bedingungen an mindestens etwa 12, vorzugsweise mindestens etwa 25, wie z.B. etwa 40, 50 oder 75 aufeinanderfolgende Nukleotide eines Sense-Stranges einer erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz oder eines entsprechenden Antisense-Stranges hybridisiert.

Weitere erfindungsgemäße Nukleinsäuresequenzen sind abgeleitet von SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 oder 45 und unterscheiden sich davon durch Addition, Substitution, Insertion oder Deletion einzelner oder mehrerer Nukleotide, kodieren aber weiterhin für Polypeptide mit dem gewünschten Eigenschaftsprofil. Dies können Polynukleotide sein, die zu obigen Sequenzen in mindestens etwa 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 80% oder 90%, vorzugsweise in mindestens etwa 95%, 96%, 97%, 98% oder 99% der Sequenzpositionen identisch sind.

Erfindungsgemäß umfasst sind auch solche Nukleinsäuresequenzen, die sogenannte stumme Mutationen umfassen oder entsprechend der Codon-Nutzung eines speziellen Ursprungs- oder Wirtsorganismus, im Vergleich zu einer konkret genannten Sequenz verändert sind, ebenso wie natürlich vorkommende Varianten, wie z.B. Spleißvarianten oder Allelvarianten, davon. Gegenstand sind ebenso durch konservative Nukleotidsubstitutionen (d.h. die betreffende Aminosäure wird durch eine Aminosäure gleicher Ladung, Größe, Polarität und/oder Löslichkeit ersetzt) erhältliche Sequenzen.

Gegenstand der Erfindung sind auch die durch Sequenzpolymorphismen von den konkret offenbarten Nukleinsäuren abgeleiteten Moleküle. Diese genetischen Polymorphismen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund der natürlichen Variation existieren. Diese natürlichen Variationen bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz eines Gens.

Weiterhin umfasst die Erfindung auch Nukleinsäuresequenzen, welchen mit oben genannten

kodierenden Sequenzen hybridisieren oder dazu komplementär sind. Diese Polynukleotide lassen sich bei Durchmusterung von genomischen oder cDNA-Banken auffinden und gegebenenfalls daraus mit geeigneten Primern mittels PCR vermehren und anschließend beispielsweise mit geeigneten Sonden isolieren. Eine weitere Möglichkeit bietet die Transformation geeigneter Mikroorganismen mit erfindungsgemäßen Polynukleotiden oder Vektoren, die Vermehrung der Mikroorganismen und damit der Polynukleotide und deren anschließende Isolierung. Darüber hinaus können erfindungsgemäße Polynukleotide auch auf chemischem Wege synthetisiert werden.

Unter der Eigenschaft, an Polynukleotide „hybridisieren“ zu können, versteht man die Fähigkeit eines Poly- oder Oligonukleotids unter stringenten Bedingungen an eine nahezu komplementäre Sequenz zu binden, während unter diesen Bedingungen unspezifische Bindungen zwischen nicht-komplementären Partnern unterbleiben. Dazu sollten die Sequenzen zu 70-100%, vorzugsweise zu 90-100%, komplementär sein. Die Eigenschaft komplementärer Sequenzen, spezifisch aneinander binden zu können, macht man sich beispielsweise in der Northern- oder Southern-Blot-Technik oder bei der Primerbindung in PCR oder RT-PCR zunutze. Üblicherweise werden dazu Oligonukleotide ab einer Länge von 30 Basenpaaren eingesetzt. Unter stringenten Bedingungen versteht man beispielsweise in der Northern-Blot-Technik die Verwendung einer 50 – 70 °C, vorzugsweise 60 – 65 °C warmen Waschlösung, beispielsweise 0,1x SSC-Puffer mit 0,1% SDS (20x SSC: 3M NaCl, 0,3M Na-Citrat, pH 7,0) zur Elution unspezifisch hybridisierter cDNA-Sonden oder Oligonukleotide. Dabei bleiben, wie oben erwähnt, nur in hohem Maße komplementäre Nukleinsäuren aneinander gebunden. Die Einstellung stringenter Bedingungen ist dem Fachmann bekannt und ist z.B. in Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. beschrieben.

c) Isolierung der kodierenden metA-Gene

Die für das Enzym Homoserin-O-Acetyl-Transferase codierenden metA-Gene aus den Organismen obiger Liste I sind in an sich bekannter Weise isolierbar.

Zur Isolierung der metA-Gene oder auch anderer Gene der Organismen aus obiger Liste I wird zunächst eine Genbank dieses Organismus in Escherichia coli (E. coli) angelegt. Das Anlegen von Genbanken ist in allgemein bekannten Lehrbüchern und Handbüchern ausführlich beschrieben.

ben. Als Beispiel seien das Lehrbuch von Winnacker: Gene und Klone, Eine Einführung in die Gentechnologie (Verlag Chemie, Weinheim, Deutschland, 1990), oder das Handbuch von Sambrook et al.: Molecular Cloning, A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) genannt. Eine sehr bekannte Genbank ist die des E. coli K-12 Stammes W3110, die von Kohara et al. (Cell 50, 495-508 (198)) in λ -Vektoren angelegt wurde.

Zur Herstellung einer Genbank von Organismen der Liste I in E. coli können Cosmide, wie der Cosmidvektor SuperCos I (Wahl et al., 1987, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 84: 2160-2164), aber auch Plasmide, wie pBR322 (BoliVal; Life Sciences, 25, 807-818 (1979)) oder pUC9 (Vieira et al., 1982, Gene, 19: 259-268), verwendet werden. Als Wirte eignen sich besonders solche E. coli Stämme, die restriktions- und rekombinationsdefekt sind. Ein Beispiel hierfür ist der Stamm DH5 α mcr, der von Grant et al. (Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 87 (1990) 4645-4649) beschrieben wurde. Die mit Hilfe von Cosmiden klonierten langen DNA-Fragmente können anschließend wiederum in gängige, für die Sequenzierung geeignete Vektoren subkloniert und anschließend sequenziert werden, so wie es z. B. bei Sanger et al. (proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 74: 5463-5467, 1977) beschrieben ist.

Die erhaltenen DNA-Sequenzen können dann mit bekannten Algorithmen bzw. Sequenzanalyse-Programmen, wie z. B. dem von Staden (Nucleic Acids Research 14, 217-232 (1986)), dem von Marck (Nucleic Acids Research 16, 1829-1836 (1988)) oder dem GCG-Programm von Butler (Methods of Biochemical Analysis 39, 74-97 (1998)), untersucht werden.

Die für die metA-Gene kodierenden DNA-Sequenzen von Organismen gemäß obiger Liste I wurde gefunden. Insbesondere wurden DNA-Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 und 45. Weiterhin wurde aus diesen vorliegenden DNA-Sequenzen mit den oben beschriebenen Methoden die Aminosäuresequenzen der entsprechenden Proteine abgeleitet. Durch SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 und 46 sind die sich ergebenden Aminosäuresequenzen der metA-Genprodukte dargestellt.

Kodierende DNA-Sequenzen, die sich aus den Sequenzen gemäß SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43 und 45 durch die Degeneration des

genetischen Kodes ergeben, sind ebenfalls Gegenstand der Erfindung. In gleicher Weise sind DNA-Sequenzen, die mit diesen Sequenzen oder davon abgeleiteten Sequenzteilen hybridisieren, Gegenstand der Erfindung.

- 5 Anleitungen zur Identifizierung von DNA-Sequenzen mittels Hybridisierung findet der Fachmann unter anderem im Handbuch "The DIG System Users Guide für Filter Hybridization" der Firma Boehringer Mannheim GmbH (Mannheim, Deutschland, 1993) und bei Liebl et al. (International Journal of Systematic Bacteriology (1991) 41: 255-260). Anleitungen zur Amplifikation von DNA-Sequenzen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) findet der Fachmann unter anderem
- 10 im Handbuch von Gait: Oligonukleotide synthesis: A Practical Approach (IRL Press, Oxford, UK, 1984) und bei Newton und Graham: PCR (Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Deutschland, 1994).

- Weiterhin ist bekannt, dass Änderungen am N- und/oder C- Terminus eines Proteins dessen
- 15 Funktion nicht wesentlich beeinträchtigen oder sogar stabilisieren können. Angaben hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Ben-Bassat et al. (Journal of Bacteriology 169: 751-757 (1987)), bei O'Regan et al. (Gene 77: 237-251 (1989)), bei Sahin-Toth et al. (Protein Sciences 3: 240-247 (1994)), bei Hochuli et al. (Biotechnology 6: 1321-1325 (1988)) und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

- 20 Aminosäuresequenzen, die sich in entsprechender Weise aus den SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44 und 46 ergeben, sind ebenfalls Bestandteil der Erfindung.

- 25 d) Erfindungsgemäß verwendete Wirtszellen

- Weitere Gegenstände der Erfindung betreffen als Wirtszelle dienende Mikroorganismen, insbesondere coryneforme Bakterien, die einen Vektor, insbesondere Pendelvektor oder Plasmidvektor, der wenigstens ein metA-Gen erfindungsgemäßer Definition trägt, enthalten oder in denen
- 30 ein erfindungsgemäßes metA-Gen exprimiert bzw. verstärkt ist.

Diese Mikroorganismen können schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, aus Glucose, Saccharose, Lactose, Fructose, Maltose, Melasse, Stärke, Cellulose oder aus Gly-

cerin und Ethanol herstellen. Vorzugsweise sind dies coryneforme Bakterien, insbesondere der Gattung *Corynebacterium*. Aus der Gattung *Corynebacterium* ist insbesondere die Art *Corynebacterium glutamicum* zu nennen, die in der Fachwelt für ihre Fähigkeit bekannt ist, L-Aminosäuren zu produzieren.

5

Als Beispiele für geeignete Stämme coryneformer Bakterien sind solche der Gattung *Corynebacterium*, insbesondere der Art *Corynebacterium glutamicum* (*C. glutamicum*), wie *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032,

Corynebacterium acetoglutamicum ATCC 15806,

10 *Corynebacterium acetoacidophilum* ATCC 13870,

Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539,

Corynebacterium melassecola ATCC 17965

oder

15 der Gattung *Brevibacterium*, wie

Brevibacterium flavum ATCC 14067

Brevibacterium lactofermentum ATCC 13869 und

Brevibacterium divaricatum ATCC 14020 zu nennen;

oder davon abgeleitete Stämme, wie

20 *Corynebacterium glutamicum* KFCC10065

Corynebacterium glutamicum ATCC21608

welche ebenfalls die gewünschte Feinchemikalie oder deren Vorstufe(n) produzieren.

Mit der Abkürzung KFCC ist die Korean Federation of Culture Collection gemeint, mit der Abkürzung ATCC die American type strain culture collection, mit der Abkürzung FERM BP die Sammlung des National institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, Japan bezeichnet.

25

e) Durchführung der erfindungsgemäßen Fermentation

30

Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass coryneforme Bakterien nach Überexpression eines metA-Gens aus Organismen der Liste I in vorteilhafter Weise schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, produzieren.

5 Zur Erzielung einer Überexpression kann der Fachmann unterschiedliche Maßnahmen einzeln oder in Kombination ergreifen. So kann die Kopienzahl der entsprechenden Gene erhöht werden, oder es kann die Promotor- und Regulationsregion oder die Ribosomenbindungsstelle, die sich stromaufwärts des Strukturgens befindet, mutiert werden. In gleicher Weise wirken Expres-
10 sionskassetten, die stromaufwärts des Strukturgens eingebaut werden. Durch induzierbare Promotoren ist es zusätzlich möglich, die Expression im Verlaufe der fermentativen L-Methionin-Produktion zu steigern. Durch Maßnahmen zur Verlängerung der Lebensdauer der mRNA wird ebenfalls die Expression verbessert. Weiterhin wird durch Verhinderung des Abbaus des Enzymproteins ebenfalls die Enzymaktivität verstärkt. Die Gene oder Genkonstrukte können ent-
15 weder in Plasmiden mit unterschiedlicher Kopienzahl vorliegen oder im Chromosom integriert und amplifiziert sein. Alternativ kann weiterhin eine Überexpression der betreffenden Gene durch Veränderung der Medienzusammensetzung und Kulturführung erreicht werden.

15 Anleitungen hierzu findet der Fachmann unter anderem bei Martin et al. (Biotechnology 5, 137-146 (1987)), bei Guerrero et al. (Gene 138, 35-41 (1994)), Tsuchiya und Morinaga (Bio/Technology 6, 428-430 (1988)), bei Eikmanns et al. (Gene 102, 93-98 (1991)), in der Euro-
20 päischen Patentschrift 0472869, im US Patent 4,601,893, bei Schwarzer und Pühler (Biotechnology 9, 84-87 (1991)), bei Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126-132 (1994)), bei LaBarre et al. (Journal of Bacteriology 175, 1001-1007 (1993)), in der Patentanmel-
25 dung WO 96/15246, bei Malumbres et al. (Gene 134, 15-24 (1993)), in der japanischen Offenlegungsschrift JP-A-10-229891, bei Jensen und Hammer (Biotechnology and Bioengineering 58, 191-195 (1998)), bei Makrides (Microbiological Reviews 60 : 512-538 (1996)) und in bekann-
ten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie.

25 Gegenstand der Erfindung sind deshalb auch Expressionskonstrukte, enthaltend unter der ge-
netischen Kontrolle regulativer Nukleinsäuresequenzen eine für ein erfindungsgemäßes Poly-
peptid kodierende Nukleinsäuresequenz; sowie Vektoren, umfassend wenigstens eines dieser
30 Expressionskonstrukte. Vorzugsweise umfassen solche erfindungsgemäßen Konstrukte 5'-stromaufwärts von der jeweiligen kodierenden Sequenz einen Promotor und 3'-stromabwärts eine Terminatorsequenz sowie gegebenenfalls weitere übliche regulative Elemente, und zwar
jeweils operativ verknüpft mit der kodierenden Sequenz. Unter einer „operativen Verknüpfung“ versteht man die sequentielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und

gegebenenfalls weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes der regulativen Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann. Beispiele für operativ verknüpfbare Sequenzen sind Aktivierungssequenzen sowie Enhancer und dergleichen. Weitere regulative Elemente umfassen selektierbare Marker, Amplifikationssignale, Replikationsursprünge und dergleichen. Geeignete regulatorische Sequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990).

Zusätzlich zu den artifiziellen Regulationssequenzen kann die natürliche Regulationssequenz vor dem eigentlichen Strukturgen noch vorhanden sein. Durch genetische Veränderung kann diese natürliche Regulation gegebenenfalls ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht oder erniedrigt werden. Das Genkonstrukt kann aber auch einfacher aufgebaut sein, das heißt es werden keine zusätzlichen Regulationssignale vor das Strukturgen insertiert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wird nicht entfernt. Statt dessen wird die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt und die Genexpression gesteigert oder verringert wird. Die Nukleinsäuresequenzen können in einer oder mehreren Kopien im Genkonstrukt enthalten sein.

Beispiele für brauchbare Promotoren sind: die Promotoren, *ddh*, *amy*, *lysC*, *dapA*, *lysA* aus *Corynebacterium glutamicum*, aber auch gram-positiven Promotoren SPO2 wie sie in *Bacillus Subtilis* and Its Closest Relatives, Sonenshein, Abraham L., Hoch, James A., Losick, Richard; ASM Press, District of Columbia, Washington und Patek M. Eikmanns B.J. Patek J. Sahm H. Microbiology. 142 1297-309, 1996 beschrieben sind, oder aber auch *cos*-, *tac*-, *trp*-, *tet*-, *trp-tet*-, *lpp*-, *lac*-, *lpp-lac*-, *lacIq*-, *T7*-, *T5*-, *T3*-, *gal*-, *trc*-, *ara*-, *SP6*-, *I-PR*- oder im *I-PL*-Promotor, die vorteilhafterweise in gram-negativen Bakterien Anwendung finden. Bevorzugt ist auch die Verwendung induzierbarer Promotoren, wie z.B. licht- und insbesondere temperaturinduzierbarer Promotoren, wie der *P₇P₁*-Promotor. Prinzipiell können alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen verwendet werden. Darüber hinaus können auch synthetische Promotoren vorteilhaft verwendet werden.

Die genannten regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Nukleinsäuresequenzen und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtszusammenhang bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert oder überexprimiert wird, oder

dass es sofort exprimiert und/oder überexprimiert wird.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei vorzugsweise die Expression positiv beeinflussen und dadurch erhöhen oder erniedrigen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt durch Fusion eines geeigneten Promotors, einer geeigneten Shine-Dalgarnow-Sequenz mit einer metA-Nukleotidsequenz sowie einem geeigneten Terminationssignal. Dazu verwendet man gängige Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in Current Protocols in Molecular Biology, 1993, John Wiley & Sons, Incorporated, New York New York, PCR Methods, Gelfand, David H., Innis, Michael A., Sninsky, John J. 1999, Academic Press, Incorporated, California, San Diego, ., PCR Cloning Protocols, Methods in Molecular Biology Ser., Vol. 192, 2nd ed., Humana Press, New Jersey, Totowa. T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, Experiments with Gene Fusions, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience (1987) beschrieben sind.

Das rekombinante Nukleinsäurekonstrukt bzw. Genkonstrukt wird zur Expression in einem geeigneten Wirtsorganismus vorteilhafterweise in einen wirtsspezifischen Vektor inseriert, der eine optimale Expression der Gene im Wirt ermöglicht. Vektoren sind dem Fachmann wohl bekannt und können beispielsweise aus "Cloning Vectors" (Pouwels P. H. et al., Hrsg, Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, 1985) entnommen werden. Unter Vektoren sind außer Plasmiden auch alle anderen dem Fachmann bekannten Vektoren, wie beispielsweise Phagen, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Cosmide, und lineare oder zirkuläre DNA zu verstehen. Diese Vektoren können autonom im Wirtsorganismus repliziert oder chromosomal repliziert werden.

Zur Verstärkung wurden erfindungsgemäße metA-Gene beispielhaft mit Hilfe von episomalen Plasmiden überexprimiert. Als Plasmide eignen sich solche, die in coryneformen Bakterien repli-

5 ziert werden. Zahlreiche bekannte Plasmidvektoren, wie z. B. pZ1 (Menkel et al., Applied and Environmental Microbiology (1989) 64: 549-554), pEKEx1 (Eikmanns et al., Gene 102: 93-98 (1991)) oder pHS2-1 (Sonnen et al., Gene 107: 69-74 (1991)) beruhen auf den kryptischen Plasmiden pHM1519, pBL1 oder pGA1. Andere Plasmidvektoren, wie z. B. pCLiK5MCS, oder solche, die auf pCG4 (US-A 4,489,160) oder pNG2 (Serwold-Davis et al., FEMS Microbiology Letters 66, 119-124 (1990)) oder pAG1 (US-A 5,158,891) beruhen, können in gleicher Weise verwendet werden.

10 Weiterhin eignen sich auch solche Plasmidvektoren mit Hilfe derer man das Verfahren der Genamplifikation durch Integration in das Chromosom anwenden kann, so wie es beispielsweise von Remscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60,126-132 (1994)) zur Duplikation bzw. Amplifikation des *hom-thrB*-Operons beschrieben wurde. Bei dieser Methode wird das vollständige Gen in einen Plasmidvektor kloniert, der in einem Wirt (typischerweise *E. coli*), nicht aber in *C. glutamicum* replizieren kann. Als Vektoren kommen beispielsweise pSUP301 (Simon et al., Bio/ Technology 1,784-791 (1983)), pK18mob oder pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73 (1994)), Bernard et al., Journal of Molecular Biology, 234: 534-541 (1993)), pEM1 (Schrumpf et al. 1991, Journal of Bacteriology 173: 4510-4516) oder pBGS8 (Spratt et al., 1986, Gene 41: 337-342) in Frage. Der Plasmidvektor, der das zu amplifizierende Gen enthält, wird anschließend durch Transformation in den gewünschten Stamm von *C. glutamicum* überführt.

15 Methoden zur Transformation sind beispielsweise bei Thierbach et al. (Applied Microbiology and Biotechnology 29, 356-362 (1988)), Dunican und Shivnan (Biotechnology 7, 1067-1070 (1989)) und Tauch et al. (FEMS Microbiological Letters 123,343-347 (1994)) beschrieben.

20 Enzyme können durch Mutationen in den korrespondierenden Genen derart in ihrer Aktivität beeinflusst werden, dass es zu einer teilweisen oder vollständigen Verringerung der Reaktionsgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion kommt. Beispiele für solche Mutationen sind dem Fachmann bekannt (Motoyama H. Yano H. Terasaki Y. Anazawa H. Applied & Environmental Microbiology. 67:3064-70, 2001, Eikmanns BJ. Eggeling L. Sahm H. Antonie van Leeuwenhoek. 64:145-63, 1993-94.)

30 Zusätzlich kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben einer Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen *metA*-Gen eines oder mehrere Enzyme des jeweiligen Biosyntheseweges, des Cystein-

Stoffwechselwegs, der Aspartatsemialdehyd-Synthese, der Glykolyse, der Anaplerotik, des Pentose-Phosphat-Stoffwechsels, des Zitronensäure-Zyklus oder des Aminosäure-Exports zu verstärken.

5 So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, eines oder mehrere der folgenden Gene verstärkt sein:

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen *lysC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),
- das für eine Aspartat-Semialdehyd kodierende Gen *asd* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 282),

10 - das für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierende Gen *gap* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierende Gen *pgk* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

15 - das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen *pyc* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Triosephosphat Isomerase kodierende Gen *tpi* (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Methionin Synthase kodierende Gen *metH* (EP 1 108 790 A2),

20 - das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen *metB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),

- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen *metC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen *glyA* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

25 - das für die O-Acetylhomoserin-Sulphydrylase kodierende Gen *metY* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

- das für die Methylentetrahydrofolat-Reduktase kodierende Gen *metF* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2379),

30 - das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen *serC* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen *serB* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen *cysE* (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO.

2818)

- das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

- 5 So kann für die Herstellung von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin in coryneformen Bakterien, vorteilhaft sein, gleichzeitig wenigstens eines der nachfolgenden Gene zu mutieren, so dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch einen Stoffwechselmetaboliten in ihrer Aktivität beeinflusst werden:

10

- das für eine Aspartatkinase kodierende Gen lysC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 281),

- das für die Pyruvat Carboxylase kodierende Gen pyc (Eikmanns (1992), Journal of Bacteriology 174: 6076-6086),

- das für die Methionin Synthase kodierende Gen meth (EP 1 108 790 A2),

- 15 - das für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierende Gen metB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3491),

- das für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierende Gen metC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3061),

- das für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierende Gen glyA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1110),

- 20 - das für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierende Gen metY (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 726),

- das für die Methylentetrahydrofolat-Reduktase kodierende Gen metF (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2379),

- 25 - das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodierende Gen serC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 928)

- eines für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende Gen serB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 334, DNA-SEQ NO. 467, DNA-SEQ NO. 2767)

- das für die Serine Acetyl-Transferase kodierende Gen cysE (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2818)

- 30 - das für eine Homoserin-Dehydrogenase kodierende Gen hom (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 1306)

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsgemäßen metA-Gene eines oder mehrere der folgenden Gene abzuschwächen, insbesondere deren Expression zu verringern, oder auszuschalten:

5

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)
- das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)
- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)
- das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)
- das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)

15

- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)
- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)
- das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)
- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

20

25

Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, zusätzlich zur Expression bzw. Verstärkung eines der erfindungsgemäßen metA-Gene in Coryneformen Bakterien gleichzeitig wenigstens eines der folgenden Gene so zu mutieren, dass die enzymatische Aktivität des korrespondierenden Proteins teilweise oder vollständig verringert wird:

30

- das für die Homoserine-Kinase kodierende Gen thrB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3453)
- das für die Threonin Dehydratase kodierende Gen ilvA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2328)
- das für die Threonin Synthase kodierende Gen thrC (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3486)

- das für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierende Gen ddh (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3494)

- das für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierende Gen pck (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3157)

5 - das für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierende Gen pgi (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 950)

- das für die Pyruvat-Oxidase kodierende Gen poxB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 2873)

- das für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierende Gen dapA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3476)

10 - das für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierende Gen dapB (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3477)

- das für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierende Gen lysA (EP 1 108 790 A2; DNA-SEQ NO. 3451)

15 Weiterhin kann es für die Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, vorteilhaft sein, neben der Expression bzw. Verstärkung eines erfindungsgemäßen metA-Gens unerwünschte Nebenreaktionen auszuschalten (Nakayama: "Breeding of Amino Acid Producing Microorganisms", in: Overproduction of Microbial Products, Krumphanzl, Sikyta, Vanek (eds.), Academic Press, London, UK, 1982).

20 Die erfindungsgemäß hergestellten Mikroorganismen können kontinuierlich oder diskontinuierlich im batch-Verfahren (Satzkultivierung) oder im fed batch (Zulaufverfahren) oder repeated fed batch Verfahren (repetitives Zulaufverfahren) zur Produktion von schwefelhaltige Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, kultiviert werden. Eine Zusammenfassung über bekannte Kultivierungsmethoden ist im Lehrbuch von Chmiel (Bioprozeßtechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) oder im Lehrbuch von Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994)) zu finden.

25

30 Das zu verwendende Kulturmedium hat in geeigneter Weise den Ansprüchen der jeweiligen Stämme zu genügen. Beschreibungen von Kulturmedien verschiedener Mikroorganismen sind im Handbuch "Manual of Methods für General Bacteriology" der American Society für Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) enthalten.

Diese erfindungsgemäß einsetzbaren Medien umfassen gewöhnlich eine oder mehreren Kohlenstoffquellen, Stickstoffquellen, anorganische Salze, Vitamine und/oder Spurenelemente.

5 Bevorzugte Kohlenstoffquellen sind Zucker, wie Mono-, Di- oder Polysaccharide. Sehr gute Kohlenstoffquellen sind beispielsweise Glucose, Fructose, Mannose, Galactose, Ribose, Sorbose, Ribulose, Lactose, Maltose, Saccharose, Raffinose, Stärke oder Cellulose. Man kann Zucker auch über komplexe Verbindungen, wie Melassen, oder andere Nebenprodukte der Zucker-Raffinierung zu den Medien geben. Es kann auch vorteilhaft sein, Gemische verschiedener Kohlenstoffquellen zuzugeben. Andere mögliche Kohlenstoffquellen sind Öle und Fette wie z. B.

10 Sojaöl, Sonnenblumenöl, Erdnußöl und Kokosfett, Fettsäuren wie z. B. Palmitinsäure, Stearinsäure oder Linolsäure, Alkohole wie z. B. Glycerin, Methanol oder Ethanol und organische Säuren wie z. B. Essigsäure oder Milchsäure.

Stickstoffquellen sind gewöhnlich organische oder anorganische Stickstoffverbindungen oder

15 Materialien, die diese Verbindungen enthalten. Beispielhafte Stickstoffquellen umfassen Ammoniak-Gas oder Ammoniumsalze, wie Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Ammoniumphosphat, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumnitrat, Nitrate, Harnstoff, Aminosäuren oder komplexe Stickstoffquellen, wie Maisquellwasser, Sojamehl, Sojaprotein, Hefeextrakt, Fleischextrakt und andere. Die Stickstoffquellen können einzeln oder als Mischung verwendet werden.

20 Anorganische Salzverbindungen, die in den Medien enthalten sein können, umfassen die Chlorid-, Phosphor- oder Sulfatsalze von Calcium, Magnesium, Natrium, Kobalt, Molybdän, Kalium, Mangan, Zink, Kupfer und Eisen

25 Als Schwefelquelle für die Herstellung von schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesondere von Methionin, können anorganische schwefelhaltige Verbindungen wie beispielsweise Sulfate, Sulfite, Dithionite, Tetrathionate, Thiosulfate, Sulfide aber auch organische Schwefelverbindungen, wie Mercaptane und Thiole, verwendet werden.

30 Als Phosphorquelle können Phosphorsäure, Kaliumdihydrogenphosphat oder Dikaliumhydrogenphosphat oder die entsprechenden Natrium haltigen Salze verwendet werden.

Chelatbildner können zum Medium gegeben werden, um die Metallionen in Lösung zu halten.

Besonders geeignete Chelatbildner umfassen Dihydroxyphenole, wie Catechol oder Protocatechuat, oder organische Säuren, wie Citronensäure.

Die erfindungsgemäß eingesetzten Fermentationsmedien enthalten üblicherweise auch andere Wachstumsfaktoren, wie Vitamine oder Wachstumsförderer, zu denen beispielsweise Biotin, Riboflavin, Thiamin, Folsäure, Nikotinsäure, Panthothenat und Pyridoxin gehören. Wachstumsfaktoren und Salze stammen häufig von komplexen Medienkomponenten, wie Hefeextrakt, Melassen, Maisquellwasser und dergleichen. Dem Kulturmedium können überdies geeignete Vorstufen zugesetzt werden. Die genaue Zusammensetzung der Medienverbindungen hängt stark vom jeweiligen Experiment ab und wird für jeden spezifischen Fall individuell entschieden. Information über die Medienoptimierung ist erhältlich aus dem Lehrbuch "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Hrsg. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) S. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Wachstumsmedien lassen sich auch von kommerziellen Anbietern beziehen, wie Standard 1 (Merck) oder BHI (Brain heart infusion, DIFCO) und dergleichen.

Sämtliche Medienkomponenten werden, entweder durch Hitze (20 min bei 1,5 bar und 121°C) oder durch Sterilfiltration, sterilisiert. Die Komponenten können entweder zusammen oder nötigenfalls getrennt sterilisiert werden. Sämtliche Medienkomponenten können zu Beginn der Anzucht zugegen sein oder wahlfrei kontinuierlich oder chargenweise hinzugegeben werden.

Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise zwischen 15°C und 45°C, vorzugsweise bei 25°C bis 40°C und kann während des Experimentes konstant gehalten oder verändert werden. Der pH-Wert des Mediums sollte im Bereich von 5 bis 8,5, vorzugsweise um 7,0 liegen. Der pH-Wert für die Anzucht läßt sich während der Anzucht durch Zugabe von basische Verbindungen wie Natriumhydroxid, Kaliumhydroxid, Ammoniak bzw. Ammoniakwasser oder saure Verbindungen wie Phosphorsäure oder Schwefelsäure kontrollieren. Zur Kontrolle der Schaumentwicklung können Antischaummittel, wie z. B. Fettsäurepolyglykolester, eingesetzt werden. Zur Aufrechterhaltung der Stabilität von Plasmiden können dem Medium geeignete selektiv wirkende Stoffe, wie z. B. Antibiotika, hinzugefügt werden. Um aerobe Bedingungen aufrechtzuerhalten, werden Sauerstoff oder Sauerstoff haltige Gasmischungen, wie z. B. Umgebungsluft, in die Kultur eingetragen. Die Temperatur der Kultur liegt normalerweise bei 20°C bis 45°C und. Die Kultur wird solange fortgesetzt, bis sich ein Maximum des gewünschten Produktes gebildet hat. Dieses Ziel wird normalerweise innerhalb von 10 Stunden bis 160 Stunden erreicht.

Die so erhaltenen, insbesondere L-Methionin enthaltenden, Fermentationsbrühen haben üblicherweise eine Trockenmasse von 7,5 bis 25 Gew.-%.

- 5 Vorteilhaft ist außerdem auch, wenn die Fermentation zumindest am Ende, insbesondere jedoch über mindestens 30% der Fermentationsdauer zuckerlimitiert gefahren wird. Das heißt, dass während dieser Zeit die Konzentration an verwertbarem Zucker im Fermentationsmedium auf ≥ 0 bis 3 g/l gehalten, beziehungsweise abgesenkt wird.

- 10 Die Fermentationsbrühe wird anschließend weiterverarbeitet. Je nach Anforderung kann die Biomasse ganz oder teilweise durch Separationsmethoden, wie z. B. Zentrifugation, Filtration, Dekantieren oder einer Kombination dieser Methoden aus der Fermentationsbrühe entfernt oder vollständig in ihr belassen werden.

- 15 Anschließend kann die Fermentationsbrühe mit bekannten Methoden, wie z. B. mit Hilfe eines Rotationsverdampfers, Dünnschichtverdampfers, Fallfilmverdampfers, durch Umkehrosmose, oder durch Nanofiltration, eingedickt beziehungsweise aufkonzentriert werden. Diese aufkonzentrierte Fermentationsbrühe kann anschließend durch Gefriertrocknung, Sprühtrocknung, Sprühgranulation oder durch anderweitige Verfahren aufgearbeitet werden.

- 20 Es ist aber auch möglich die schwefelhaltigen Feinchemikalien, insbesonder L-Methionin, weiter aufzureinigen. Hierzu wird die produkthaltige Brühe nach dem Abtrennen der Biomasse einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Produkt oder die Verunreinigungen ganz oder teilweise auf dem Chromatographieharz zurückgehalten werden. Diese Chromatographieschritte können nötigenfalls wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl der geeigneten Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung bewandert. Das gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist.

- 30 Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindung(en) kann durch Techniken des Standes der Technik bestimmt werden. Diese umfassen Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, NIRS, Enzymtest

oder mikrobiologische Tests. Diese Analyseverfahren sind zusammengefaßt in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11 27-32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A. et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

Die Erfindung wird nun anhand der folgenden nicht-limitierenden Beispiele näher beschrieben:

10

Beispiel 1: Konstruktion von pCLiK5MCS

Zunächst wurden Ampicillinresistenz und Replikationsursprung des Vektors pBR322 mit den Oligonukleotiden p1.3 (SEQ ID NO:47) und p2.3 (SEQ ID NO:48) mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert.

15

p1.3 (SEQ ID NO:47)

5'-CCCGGGATCCGCTAGCGGCGCGCCGGCCGGCCCGGTGTGAAATACCGCACAG-3'

20

p2.3 (SEQ ID NO:48)

5'-TCTAGACTCGAGCGGCCGCGGCCGGCCTTTAAATTGAAGACGAAAGGGCCTCG-3'

25

Neben den zu pBR322 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid p1.3 (SEQ ID NO:47) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SmaI, BamHI, NheI und AscI und das Oligonukleotid p2.3 (SEQ ID NO:48) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, XhoI, NotI und DraI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,1 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Die stumpfen Enden des DNA-Fragmentes wurden mit dem Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers miteinander ligiert und der Ligationsan-

30

satzen nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

5

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klon wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK1.

10 Ausgehend vom Plasmid pWLT1 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden neo1 (SEQ ID NO:49) und neo2 (SEQ ID NO:50) eine Kanamycin-Resistenzcassette amplifiziert.

neo1 (SEQ ID NO:49):

15 5'-GAGATCTAGACCCGGGGATCCGCTAGCGGGCTGCTAAAGGAAGCGGA-3'

neo2 (SEQ ID NO:50):

5'-GAGAGGCGCGCCGCTAGCGTGGGCGAAGAACTCCAGCA-3'

20 Neben den zu pWLT1 komplementären Sequenzen, enthält das Oligonukleotid neo1 in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen XbaI, SmaI, BamHI, NheI und das Oligonukleotid neo2 (SEQ ID NO:50) in 5'-3' Richtung die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen AscI und NheI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo

25 Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,3 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und AscI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification

30 Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK1 wurde ebenfalls mit den Restriktionsendonukleasen XbaI und AscI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte

Vektor (ca. 2,1kb) mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Ampicillin (50µg/ml) und Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

- 10 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK2.

- 15 Der Vektor pCLiK2 wurde mit der Restriktionsendonuklease DraI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ca. 2,3 kb großes Vektorfragment mit dem GFXTMPCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers religiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben (1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

- 25 Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK3.

- 30 Ausgehend vom Plasmid pWLQ2 (Liebl et al., 1992) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden cg1 ((SEQ ID NO:51) und cg2 (SEQ ID NO:52) der Replikationsursprung pHM1519 amplifiziert.

cg1 (SEQ ID NO:51):

5'-GAGAGGGCGGCCGCGCAAAGTCCCGCTTCGTGAA-3'

cg2 (SEQ ID NO:52):

5'-GAGAGGGCGGCCGCTCAAGTCGGTCAAGCCACGC-3'

5

Neben den zu pWLQ2 komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide cg1 (SEQ ID NO:51) und cg2 (SEQ ID NO:52) Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 2,7 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Der Vektor pCLiK3 wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 2,3kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5.

Für die Erweiterung von pCLiK5 um eine „multiple cloning site“ (MCS) wurden die beide synthetischen, weitestgehend komplementären Oligonukleotide HS445 ((SEQ ID NO:53) und HS446 (SEQ ID NO:54), die Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen SwaI, XhoI, AatI, ApaI,

Asp718, MluI, NdeI, SpeI, EcoRV, Sall, ClaI, BamHI, XbaI und SmaI enthalten, durch gemeinsames Erhitzen auf 95°C und langsames Abkühlen zu einem doppelsträngigen DNA-Fragment vereinigt.

5 HS445 (SEQ ID NO:53):

5'-TCGAATTTAAATCTCGAGAGGCCTGACGTCGGGCCCCGGTACCACGCGTCATATGACTAG
TTCGGACCTAGGGATATCGTCGACATCGATGCTCTTCTGCGTTAATTAACAATTGGGATCC
TCTAGACCCGGGATTTAAAT-3'

10 HS446 (SEQ ID NO:54):

5'-GATCATTTTAAATCCCGGGTCTAGAGGATCCCAATTGTTAATTAACGCAGAAGAGCATCGA
TGTCGACGATATCCCTAGGTCCGAAGTAGTCATATGACGCGTGGTACCGGGCCCCGACGTC
AGGCCTCTCGAGATTTAAAT-3'

- 15 Der Vektor pCLiK5 wurde mit den Restriktionsendonuklease XhoI und BamHI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde der linearisierte Vektor (ca. 5,0 kb) mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers iso-
- 20 liert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem synthetischen Doppelsträngigen DNA-Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende
- 25 Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

- Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so
- 30 erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS.

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierungsreaktionen wurden mittels

ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS ist als SEQ ID NO: 57 aufgeführt.

5 Beispiel 2: Konstruktion von pCLiK5MCS integrativ sacB

Ausgehend vom Plasmid pK19mob (Schäfer et al., Gene 145,69-73(1994)) als Template für eine PCR Reaktion wurde mit den Oligonukleotiden BK1732 und BK1733 das *Bacillus subtilis* sacB Gen (kodierend für Levan Sucrase) amplifiziert.

10

BK1732 (SEQ ID NO:55):

5'-GAGAGCGGCCGCGATCCTTTTAAACCCATCAC-3'

BK1733 (SEQ ID NO:56):

15

5'-AGGAGCGGCCGCGCATCGGCATTTTCTTTTGCG-3'

Neben den zu pEK19mobsac komplementären Sequenzen, enthalten die Oligonukleotide BK1732 und BK1733 Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI. Die PCR Reaktion wurde nach Standardmethode wie Innis et al. (PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications, Academic Press (1990)) mit PfuTurbo Polymerase (Stratagene, La Jolla, USA) durchgeführt. Das erhaltene DNA Fragment mit einer Größe von ungefähr 1,9 kb wurde mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt. Das DNA-Fragment wurde mit der Restriktionsendonuklease NotI (New England Biolabs, Beverly, USA) geschnitten und im Anschluß daran erneut mit dem
25 GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers gereinigt.

Der Vektor pCLiK5MCS (hergestellt gemäß Beispiel 1) wurde ebenfalls mit der Restriktionsendonuklease NotI geschnitten und mit alkalischer Phosphatase (I (Roche Diagnostics, Mannheim)) nach Angaben des Herstellers dephosphoryliert. Nach Elektrophorese in einem 0,8%igen Agarosegel wurde ein ungefähr 2,4 kb großes Vektorfragment mit dem GFX™PCR, DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia, Freiburg) nach Angaben des Herstellers isoliert. Dieses Vektor-Fragment wurde mit Hilfe des Rapid DNA Ligation Kit (Roche Diagnostics,
30

Mannheim) nach Angaben des Herstellers mit dem geschnittenen PCR Fragment ligiert und der Ligationsansatz nach Standardmethoden wie in Sambrook et al. (Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, beschrieben(1989)), in kompetente E.coli XL-1Blue (Stratagene, La Jolla, USA) transformiert. Eine Selektion auf Plasmid tragende Zellen wurde durch das Ausplattieren auf Kanamycin (20µg/ml) haltigen LB Agar (Lennox, 1955, Virology, 1:190) erreicht.

Die Plasmid-DNA eines individuellen Klons wurde mit dem Qiaprep Spin Miniprep Kit (Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers isoliert und über Restriktionsverdaus überprüft. Das so erhaltene Plasmid erhält den Namen pCLiK5MCS integrativ sacB.

10

Sequenzierungsreaktionen wurden nach Sanger et al. (1977) Proceedings of the National Academy of Sciences USA 74:5463-5467 durchgeführt. Die Sequenzierreaktionen wurden mittels ABI Prism 377 (PE Applied Biosystems, Weiterstadt) aufgetrennt und ausgewertet.

15 Das entstandene Plasmid pCLiK5MCS integrativ sacB ist als SEQ ID NO: 58 aufgeführt.

Weitere Vektoren die zur erfindungsgemäßen Expression oder Überproduktion von metA-Genen geeignet sind, können in analoger Weise hergestellt werden.

Patentansprüche

1. Verfahren zur fermentativen Herstellung wenigstens einer schwefelhaltigen
Feinchemikalie, welches folgende Schritte umfasst:
- a) Fermentation einer die gewünschte schwefelhaltige Feinchemikalie
produzierenden coryneformen Bakterienkultur, wobei in den coryneformen
Bakterien zumindest eine heterologe Nukleotidsequenz exprimiert wird,
welche für ein Protein mit Homoserin-O-Acetyl-Transferase (metA)-Aktivität
kodiert;
- b) Anreicherung der schwefelhaltigen Feinchemikalie im Medium oder in den
Zellen der Bakterien, und
- c) Isolieren der schwefelhaltigen Feinchemikalie.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die schwefelhaltige Feinchemikalie L-Methionin
umfasst.
3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die heterologe metA-
kodierende Nukleotidsequenz zur metA-kodierenden Sequenz aus *Corynebacterium*
glutamicum ATCC 13032 eine Sequenzhomologie vom weniger als 100% aufweist.
4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die metA-kodierende Sequenz aus einem der
folgenden Organismen abgeleitet ist:

| | |
|---|------------|
| <i>Corynebacterium diptheriae</i> | ATCC 14779 |
| <i>Mycobacterium leprae</i> | ATCC 43910 |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> CDC1551 | ATCC 25584 |
| <i>Chlorobium tepidum</i> | ATCC 49652 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 17933 |
| <i>Caulobacter crescentus</i> | ATCC 19089 |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | ATCC 53420 |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | ATCC 53414 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> | ATCC 13525 |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | ATCC 25416 |
| <i>Nitrosomonas europaea</i> | ATCC 19718 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | ATCC 51907 |
| <i>Halobacterium</i> sp NRC1 | ATCC 33170 |
| <i>Thermus thermophilus</i> | ATCC 27634 |

| | |
|---------------------------|------------|
| Deinococcus radiodurans | ATCC 13939 |
| Saccharomyces cerevisiae | ATCC 10751 |
| Schizosaccharomyces pombe | ATCC 24969 |
| Xylella fastidiosa | ATCC 35881 |
| Emericella nidulans | ATCC 36104 |
| Mesorhizobium loti | ATCC 35173 |
| Acremonium crysogenum | ATCC 11550 |
| Pseudomonas putida | ATCC 47054 |
| Staphylococcus aureus | ATCC 35556 |

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metA-kodierende Sequenz eine kodierende Sequenz gemäß SEQ ID NO:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, und 45 oder eine dazu homologe Nukleotidsequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, umfasst.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die metA-kodierende Sequenz für ein Protein mit metA-Aktivität kodiert, wobei das Protein eine Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, und 46 oder eine dazu homologe Aminosäuresequenz, welche für ein Protein mit metA-Aktivität steht, umfasst.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metA-Sequenz eine in coryneformen Bakterien replizierbare oder eine stabil in das Chromosom integrierte DNA oder eine RNA ist.
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, wobei man
- a) einen mit einem Plasmidvektor transformierten Bakterienstamm einsetzt der wenigstens eine Kopie der kodierenden metA-Sequenz unter der Kontrolle regulativer Sequenzen trägt, oder
- b) einen Stamm einsetzt, in dem die kodierende metA-Sequenz in das Chromosom des Bakteriums integriert wurde
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die kodierende metA-Sequenz überexprimiert wird.

10. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen zusätzlich wenigstens ein weiteres Gen des Biosyntheseweges der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verstärkt ist oder derart mutiert ist, dass es durch Stoffwechselmetabolite nicht in seiner Aktivität beeinflusst wird.

11. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Bakterien fermentiert, in denen wenigstens ein Stoffwechselweg zumindest teilweise ausgeschaltet sind, der die Bildung der gewünschten schwefelhaltigen Feinchemikalie verringert.

12. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneforme Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter

- a) dem für eine Aspartatkinase kodierenden Gen *lysC*,
- b) dem für die Glycerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase kodierenden Gen *gap*,
- c) dem für die 3-Phosphoglycerat Kinase kodierenden Gen *pgk*,
- d) dem für die Pyruvat Carboxylase kodierenden Gen *pyc*,
- e) dem für die Triosephosphat Isomerase kodierenden Gen *tpi*,
- f) dem für die Methylentetrahydrofolat Reduktase kodierenden Gen *metF*,
- g) dem für die Cystathionin-gamma-Synthase kodierenden Gen *metB*,
- h) dem für die Cystathionin-gamma-Lyase kodierenden Gen *metC*,
- i) dem für die Serin-Hydroxymethyltransferase kodierenden Gen *glyA*,
- j) dem für die O-Acetylhomoserin-Sulfhydrylase kodierenden Gen *metY*,
- k) dem für das *metH* Gen, das für die Vitamin B12 abhängige Methionin-Synthase kodiert,
- l) *serC* Gen, das für die Phosphoserin-Aminotransferase kodiert,
- m) dem *serB* Gen, das für die Phosphoserin-Phosphatase kodiert,
- n) dem *cysE* Gen, das für die Serine Acetyl-Transferase kodiert, und
- o) dem *hom* Gen, das eine Homoserin-Dehydrogenase kodiert,

überexprimiert oder so mutiert ist, dass die korrespondierenden Proteine, verglichen mit nicht mutierten Proteinen, in geringerem Maße oder nicht durch Stoffwechselmetabolite in ihrer Aktivität beeinflusst werden.

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man coryneformen Bakterien fermentiert, in denen gleichzeitig wenigstens eines der Gene, ausgewählt unter
- a) dem für die Homoserine-Kinase kodierenden Gen thrB,
 - b) dem für die Threonin Dehydratase kodierenden Gen ilvA,
 - c) dem für die Threonin Synthase kodierenden Gen thrC
 - d) dem für die Meso-Diaminopimelat D-Dehydrogenase kodierenden Gen ddh
 - e) dem für die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase kodierenden Gen pck,
 - f) dem für die Glucose-6-Phosphat-6-Isomerase kodierenden Gen pgi,
 - g) dem für die Pyruvat-Oxidase kodierenden Gen poxB,
 - h) dem für die Dihydrodipicolinat Synthase kodierenden Gen dapA,
 - i) dem für die Dihydrodipicolinat Reduktase kodierenden Gen dapB; oder
 - j) dem für die Diaminopicolinat Decarboxylase kodierenden Gen
- durch Veränderung der Expressionsrate oder durch Einführung einer gezielten Mutation abgeschwächt ist.
14. Verfahren gemäß einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei man Mikroorganismen der Art *Corynebacterium glutamicum* einsetzt.
15. Verfahren zur Herstellung eines L-Methionin haltigen Tierfuttermittel-Additivs aus Fermentationsbrühen, welches folgende Schritte umfasst
- a) Kultivierung und Fermentation eines L-Methionin produzierenden Mikroorganismus in einem Fermentationsmedium;
 - b) Entfernung von Wasser aus der L-Methionin haltigen Fermentationsbrühe;
 - c) Entfernung der während der Fermentation gebildeten Biomasse in einer Menge von 0 bis 100 Gew.-%; und
 - d) Trocknung der gemäß b) und/oder c) erhaltenen Fermentationsbrühe, um das Tierfuttermittel-Additiv in der gewünschten Pulver- oder Granulatform zu erhalten.
16. Verfahren gemäß Anspruch 15, wobei man Mikroorganismen gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 14 einsetzt.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Verfahren zur fermentativen Herstellung von schwefelhaltigen
Feinchemikalien, insbesondere L-Methionin, unter Verwendung von Bakterien, in denen eine für
5 ein Methionin-Synthase (metA)-Gen kodierende Nukleotidsequenzen exprimiert wird.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Aktiengesellschaft

<120> MetA

<130> M/43127

<140>

<141>

<160> 58

<210> 1

<211> 1104

<212> DNA

<213> Corynebacterium diphtheriae

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1101)

<223> RDI00386

<400> 1

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| atg | ctc | acc | acc | aca | ggg | acg | ctc | acg | cac | caa | aaa | atc | gga | gac | ttt | 48 |
| Met | Leu | Thr | Thr | Thr | Gly | Thr | Leu | Thr | His | Gln | Lys | Ile | Gly | Asp | Phe | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| tac | acc | gaa | gcc | gga | gcg | acg | ctt | cac | gac | gta | acc | atc | gcc | tac | caa | 96 |
| Tyr | Thr | Glu | Ala | Gly | Ala | Thr | Leu | His | Asp | Val | Thr | Ile | Ala | Tyr | Gln | |
| | | 20 | | | | | | 25 | | | | | 30 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gca | tgg | ggc | cac | tac | acc | ggc | acc | aat | ctc | atc | gtt | ctc | gaa | cat | gcc | 144 |
| Ala | Trp | Gly | His | Tyr | Thr | Gly | Thr | Asn | Leu | Ile | Val | Leu | Glu | His | Ala | |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ctg | acc | ggc | gac | tct | aac | gct | att | tca | tgg | tgg | gac | gga | ctg | att | ggc | 192 |
| Leu | Thr | Gly | Asp | Ser | Asn | Ala | Ile | Ser | Trp | Trp | Asp | Gly | Leu | Ile | Gly | |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ggc | aaa | gca | ctc | gac | acc | aac | cgc | tac | tgc | atc | cta | tgc | acc | aac | 240 |
| Gly | Lys | Ala | Leu | Asp | Thr | Asn | Arg | Tyr | Cys | Ile | Leu | Cys | Thr | Asn | |
| 65 | | | | 70 | | | | 75 | | | | | 80 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gtg | ctc | gga | gga | tgc | aaa | gga | tcc | acc | gga | ccg | agc | agt | cca | cac | cca | 288 |
| Val | Leu | Gly | Gly | Cys | Lys | Gly | Ser | Thr | Gly | Pro | Ser | Ser | Pro | His | Pro | |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gac | gga | aaa | cca | tgg | gga | tcc | aga | ttt | cca | gcc | ctt | tca | atc | cgt | gac | 336 |
| Asp | Gly | Lys | Pro | Trp | Gly | Ser | Arg | Phe | Pro | Ala | Leu | Ser | Ile | Arg | Asp | |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ctt | gtc | aat | gcc | gaa | aaa | caa | ctt | ttc | gac | cac | ctc | ggc | atc | aat | aaa | 384 |
| Leu | Val | Asn | Ala | Glu | Lys | Gln | Leu | Phe | Asp | His | Leu | Gly | Ile | Asn | Lys | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| att | cac | gca | atc | atc | ggc | gga | tcc | atg | gga | ggc | gca | cgc | acc | ctc | gaa | 432 |
| Ile | His | Ala | Ile | Ile | Gly | Gly | Ser | Met | Gly | Gly | Ala | Arg | Thr | Leu | Glu | |
| | | 130 | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| tgg | gct | gca | ctc | cac | cca | cac | atg | atg | acg | act | gga | ttc | gtc | ata | gca | 480 |
| Trp | Ala | Ala | Leu | His | Pro | His | Met | Met | Thr | Thr | Gly | Phe | Val | Ile | Ala | |

M/43127

MetA

| 145 | 150 | 155 | 160 | |
|---|-----------------|-------------|---------------------|------|
| gtc tca gca cgc gca agc gct tgg caa atc ggt att caa act gca caa | | | | 528 |
| Val Ser Ala Arg | Ala Ser Ala Trp | Gln Ile Gly | Ile Gln Thr Ala Gln | |
| | 165 | 170 | 175 | |
| atc agc gcc ata gaa ctc gac ccc cac tgg aac ggc ggc gat tac tac | | | | 576 |
| Ile Ser Ala Ile Glu Leu Asp Pro His Trp Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr | | | | |
| | 180 | 185 | 190 | |
| agc ggt cac gca cca tgg gaa gga atc gcc gcc gct cgc cgg atc gcc | | | | 624 |
| Ser Gly His Ala Pro Trp Glu Gly Ile Ala Ala Ala Arg Arg Ile Ala | | | | |
| | 195 | 200 | 205 | |
| cac ctc acc tat cgc ggc gaa cta gaa ata gac gaa cga ttc ggc act | | | | 672 |
| His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Leu Glu Ile Asp Glu Arg Phe Gly Thr | | | | |
| | 210 | 215 | 220 | |
| tcc gca caa cac ggt gaa aac cca ctc ggc ccc ttc cga gat cca cat | | | | 720 |
| Ser Ala Gln His Gly Glu Asn Pro Leu Gly Pro Phe Arg Asp Pro His | | | | |
| | 225 | 230 | 235 | 240 |
| caa cgt ttt gcg gtc acg agc tac ctc caa cac caa ggc atc aaa ctc | | | | 768 |
| Gln Arg Phe Ala Val Thr Ser Tyr Leu Gln His Gln Gly Ile Lys Leu | | | | |
| | 245 | 250 | 255 | |
| gct caa cga ttc gat gca ggt agt tac gtc gtg ctt acc gaa gcc ctc | | | | 816 |
| Ala Gln Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Ala Leu | | | | |
| | 260 | 265 | 270 | |
| aat cgt cat gac atc gga cgc ggc cga ggc gga ctc aac aaa gcc ctc | | | | 864 |
| Asn Arg His Asp Ile Gly Arg Gly Arg Gly Gly Leu Asn Lys Ala Leu | | | | |
| | 275 | 280 | 285 | |
| agc gca atc aca gtc ccc atc atg att gct ggc gtt gat acc gat att | | | | 912 |
| Ser Ala Ile Thr Val Pro Ile Met Ile Ala Gly Val Asp Thr Asp Ile | | | | |
| | 290 | 295 | 300 | |
| ctc tac ccc tat cac cag caa gaa cac cta tca cga aat cta ggc aac | | | | 960 |
| Leu Tyr Pro Tyr His Gln Gln Glu His Leu Ser Arg Asn Leu Gly Asn | | | | |
| | 305 | 310 | 315 | 320 |
| caa ctc gct atg gca aaa atc agc tca cca gta ggc cac gac gct ttc | | | | 1008 |
| Leu Leu Ala Met Ala Lys Ile Ser Ser Pro Val Gly His Asp Ala Phe | | | | |
| | 325 | 330 | 335 | |
| ctc aca gaa ttc cga caa atg gag cga atc cta aga cat ttc atg gag | | | | 1056 |
| Leu Thr Glu Phe Arg Gln Met Glu Arg Ile Leu Arg His Phe Met Glu | | | | |
| | 340 | 345 | 350 | |
| ctt tcg gaa gga atc gac gat tcc ttc cga acc aaa cta gag cgc | | | | 1101 |
| Leu Ser Glu Gly Ile Asp Asp Ser Phe Arg Thr Lys Leu Glu Arg | | | | |
| | 355 | 360 | 365 | |
| tga | | | | 1104 |

<210> 2

<211> 367

<212> PRT

<213> Corynebacterium diptheriae

<400> 2

M/43127

MetA

Met Leu Thr Thr Thr Gly Thr Leu Thr His Gln Lys Ile Gly Asp Phe
 1 5 10 15
 Tyr Thr Glu Ala Gly Ala Thr Leu His Asp Val Thr Ile Ala Tyr Gln
 20 25 30
 Ala Trp Gly His Tyr Thr Gly Thr Asn Leu Ile Val Leu Glu His Ala
 35 40 45
 Leu Thr Gly Asp Ser Asn Ala Ile Ser Trp Trp Asp Gly Leu Ile Gly
 50 55 60
 Pro Gly Lys Ala Leu Asp Thr Asn Arg Tyr Cys Ile Leu Cys Thr Asn
 65 70 75 80
 Val Leu Gly Gly Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ser Ser Pro His Pro
 85 90 95
 Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Ala Leu Ser Ile Arg Asp
 100 105 110
 Leu Val Asn Ala Glu Lys Gln Leu Phe Asp His Leu Gly Ile Asn Lys
 115 120 125
 Ile His Ala Ile Ile Gly Gly Ser Met Gly Gly Ala Arg Thr Leu Glu
 130 135 140
 Trp Ala Ala Leu His Pro His Met Met Thr Thr Gly Phe Val Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Ser Ala Arg Ala Ser Ala Trp Gln Ile Gly Ile Gln Thr Ala Gln
 165 170 175
 Ile Ser Ala Ile Glu Leu Asp Pro His Trp Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr
 180 185 190
 Ser Gly His Ala Pro Trp Glu Gly Ile Ala Ala Ala Arg Arg Ile Ala
 195 200 205
 His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Leu Glu Ile Asp Glu Arg Phe Gly Thr
 210 215 220
 Trp Ala Gln His Gly Glu Asn Pro Leu Gly Pro Phe Arg Asp Pro His
 225 230 235 240
 Gln Arg Phe Ala Val Thr Ser Tyr Leu Gln His Gln Gly Ile Lys Leu
 245 250 255
 Ala Gln Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Ala Leu
 260 265 270
 Asn Arg His Asp Ile Gly Arg Gly Arg Gly Gly Leu Asn Lys Ala Leu
 275 280 285
 Ser Ala Ile Thr Val Pro Ile Met Ile Ala Gly Val Asp Thr Asp Ile
 290 295 300
 Leu Tyr Pro Tyr His Gln Gln Glu His Leu Ser Arg Asn Leu Gly Asn
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Met Ala Lys Ile Ser Ser Pro Val Gly His Asp Ala Phe
 325 330 335

Leu Thr Glu Phe Arg Gln Met Glu Arg Ile Leu Arg His Phe Met Glu
 340 345 350

Leu Ser Glu Gly Ile Asp Asp Ser Phe Arg Thr Lys Leu Glu Arg
 355 360 365

<210> 3

<211> 1149

<212> DNA

<213> Mycobacterium leprae

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1146)

<223> RML02951

<220>

<221> unsure

<222> 224 .. 224

<223> All occurrences of n indicate any nucleotide

<400> 3

atg aca atc tcc aag gtc cct acc cag aag ctg ccg gcc gaa ggc gag 48
 Met Thr Ile Ser Lys Val Pro Thr Gln Lys Leu Pro Ala Glu Gly Glu
 1 5 10 15

gtc ggc ttg gtc gac atc ggc tca ctt acc acc gaa agc ggt gcc gtc 96
 Val Gly Leu Val Asp Ile Gly Ser Leu Thr Thr Glu Ser Gly Ala Val
 20 25 30

atc gac gat gtc tgc atc gcc gtt cag cgc tgg ggg gaa ttg tcg ccc 144
 Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Glu Leu Ser Pro
 35 40 45

acg cga gac aac gta gtg atg gta ctg cat gca ctc acc ggt gac tcg 192
 Thr Arg Asp Asn Val Val Met Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
 50 55 60

c atc acc ggg ccc gcc gga ccg gga cat cnc aca ccc ggc tgg tgg 240
 s Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Xaa Thr Pro Gly Trp Trp
 65 70 75 80

gac tgg ata gct gga ccg ggt gca cca atc gac acc aac cgc tgg tgc 288
 Asp Trp Ile Ala Gly Pro Gly Ala Pro Ile Asp Thr Asn Arg Trp Cys
 85 90 95

gcg ata gcc acc aac gtg ctg ggc ggt tgc cgt ggc tcc acc ggc cct 336
 Ala Ile Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
 100 105 110

agt tcg ctt gcc cgc gac gga aag cct tgg ggt tca aga ttt ccg ctg 384
 Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
 115 120 125

ata tct ata cgc gac cag gta gag gca gat atc gct gca ctg gcc gcc 432
 Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Glu Ala Asp Ile Ala Ala Leu Ala Ala
 130 135 140

atg gga att aca aag gtt gcc gcc gtc gtt gga gga tct atg ggc ggg 480
 Met Gly Ile Thr Lys Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly

| 145 | 150 | 155 | 160 | |
|---|-----|-----|-----|------|
| gcg cgt gca ctg gaa tgg atc atc ggc cac ccg gac caa gtc cgg gcc | | | | 528 |
| Ala Arg Ala Leu Glu Trp Ile Ile Gly His Pro Asp Gln Val Arg Ala | 165 | 170 | 175 | |
| ggg ctg ttg ctg gcg gtc ggt gtg cgc gcc acc gcc gac cag atc ggc | | | | 576 |
| Gly Leu Leu Leu Ala Val Gly Val Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly | 180 | 185 | 190 | |
| acc caa acc acc caa atc gca gcc atc aag aca gac ccg aac tgg caa | | | | 624 |
| Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Thr Asp Pro Asn Trp Gln | 195 | 200 | 205 | |
| ggc ggt gac tac tac gag aca ggg agg gca cca gag aac ggc ttg aca | | | | 672 |
| Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Thr Gly Arg Ala Pro Glu Asn Gly Leu Thr | 210 | 215 | 220 | |
| att gcc cgc cgc ttc gcc cac ctg acc tac cgc agc gag gtc gag ctc | | | | 720 |
| Ile Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Ser Glu Val Glu Leu | 225 | 230 | 235 | 240 |
| gac acc cgg ttt gcc aac aac aac caa ggc aat gag gac ccg gcg acg | | | | 768 |
| Asp Thr Arg Phe Ala Asn Asn Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Ala Thr | 245 | 250 | 255 | |
| ggc ggg cgt tac gca gtg cag agt tac cta gag cac cag ggt gac aag | | | | 816 |
| Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys | 260 | 265 | 270 | |
| cta ttg gcc cgc ttt gac gca ggc agc tac gtg gtc ttg acc gaa acg | | | | 864 |
| Leu Leu Ala Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Thr | 275 | 280 | 285 | |
| ctg aac agc cac gac gtt ggc cgg ggc cgc gga ggg atc ggt aca gcg | | | | 912 |
| Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Ile Gly Thr Ala | 290 | 295 | 300 | |
| ctg cgc ggg tgc ccg gta ccg gtg gtg gtg ggt ggc att acc tcg gat | | | | 960 |
| Leu Arg Gly Cys Pro Val Pro Val Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp | 305 | 310 | 315 | 320 |
| egg ctc tac cca ctg cgc ttg cag cag gag ctg gcc gag atg ctg ccg | | | | 1008 |
| Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Glu Met Leu Pro | 325 | 330 | 335 | |
| ggc tgc acc ggg ctg cag gtt gta gac tcc acc tac ggg cac gac ggc | | | | 1056 |
| Gly Cys Thr Gly Leu Gln Val Val Asp Ser Thr Tyr Gly His Asp Gly | 340 | 345 | 350 | |
| ttc ctg gtg gaa tcc gag gcc gtc ggc aaa ttg atc cgt caa acc ctc | | | | 1104 |
| Phe Leu Val Glu Ser Glu Ala Val Gly Lys Leu Ile Arg Gln Thr Leu | 355 | 360 | 365 | |
| gaa ttg gcc gac gtg ggt tcc aag gaa gac gcg tgt tcg caa | | | | 1146 |
| Glu Leu Ala Asp Val Gly Ser Lys Glu Asp Ala Cys Ser Gln | 370 | 375 | 380 | |
| tga | | | | 1149 |

<210> 4

M/43127

MetA

<211> 382
 <212> PRT
 <213> Mycobacterium leprae

<220>
 <221> unsure
 <222> 75 .. 75
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<400> 4

Met Thr Ile Ser Lys Val Pro Thr Gln Lys Leu Pro Ala Glu Gly Glu
 1 5 10 15

Val Gly Leu Val Asp Ile Gly Ser Leu Thr Thr Glu Ser Gly Ala Val
 20 25 30

Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Glu Leu Ser Pro
 35 40 45

Thr Arg Asp Asn Val Val Met Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
 50 55 60

His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Xaa Thr Pro Gly Trp Trp
 65 70 75 80

Asp Trp Ile Ala Gly Pro Gly Ala Pro Ile Asp Thr Asn Arg Trp Cys
 85 90 95

Ala Ile Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
 100 105 110

Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
 115 120 125

Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Glu Ala Asp Ile Ala Ala Leu Ala Ala
 130 135 140

Met Gly Ile Thr Lys Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly
 145 150 155 160

Ala Arg Ala Leu Glu Trp Ile Ile Gly His Pro Asp Gln Val Arg Ala
 165 170 175

Gly Leu Leu Leu Ala Val Gly Val Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly
 180 185 190

Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Thr Asp Pro Asn Trp Gln
 195 200 205

Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Thr Gly Arg Ala Pro Glu Asn Gly Leu Thr
 210 215 220

Ile Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Ser Glu Val Glu Leu
 225 230 235 240

Asp Thr Arg Phe Ala Asn Asn Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Ala Thr
 245 250 255

Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys
 260 265 270

Leu Leu Ala Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Val Leu Thr Glu Thr
 275 280 285

Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Ile Gly Thr Ala
290 295 300

Leu Arg Gly Cys Pro Val Pro Val Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp
305 310 315 320

Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Glu Met Leu Pro
325 330 335

Gly Cys Thr Gly Leu Gln Val Val Asp Ser Thr Tyr Gly His Asp Gly
340 345 350

Phe Leu Val Glu Ser Glu Ala Val Gly Lys Leu Ile Arg Gln Thr Leu
355 360 365

Glu Leu Ala Asp Val Gly Ser Lys Glu Asp Ala Cys Ser Gln
370 375 380

<210> 5

<211> 1140

<212> DNA

<213> Mycobacterium tuberculosis

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1137)

<223> RMTB03565

<400> 5

atg acg atc tcc gat gta ccc acc cag acg ctg ccc gcc gaa ggc gaa 48
Met Thr Ile Ser Asp Val Pro Thr Gln Thr Leu Pro Ala Glu Gly Glu
1 5 10 15

atc ggc ctg ata gac gtc ggc tcg ctg caa ctg gaa agc ggg gcg gtg 96
Ile Gly Leu Ile Asp Val Gly Ser Leu Gln Leu Glu Ser Gly Ala Val
20 25 30

atc gac gat gtc tgt atc gcc gtg caa cgc tgg ggc aaa ttg tcg ccc 144
Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Lys Leu Ser Pro
35 40 45

gca cgg gac aac gtg gtg gtg gtc ttg cac gcg ctc acc ggc gac tcg 192
Ala Arg Asp Asn Val Val Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
50 55 60

cac atc act gga ccc gcc gga ccc ggc cac ccc acc ccc ggc tgg tgg 240
His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Pro Thr Pro Gly Trp Trp
65 70 75 80

gac ggg gtg gcc ggg ccg agt gcg ccg att gac acc acc cgc tgg tgc 288
Asp Gly Val Ala Gly Pro Ser Ala Pro Ile Asp Thr Thr Arg Trp Cys
85 90 95

gcg gta gct acc aat gtg ctc ggc ggc tgc cgc ggc tcc acc ggg ccc 336
Ala Val Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
100 105 110

agc tcg ctt gcc cgc gac gga aag cct tgg ggc tca aga ttt ccg ctg 384
Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
115 120 125

| | |
|---|------|
| atc tcg ata cgt gac cag gtg cag gcg gac gtc gcg gcg ctg gcc gcg | 432 |
| Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Gln Ala Asp Val Ala Ala Leu Ala Ala | |
| 130 135 140 | |
| ctg ggc atc acc gag gtc gcc gcc gtc gtc ggc ggc tcc atg ggc ggc | 480 |
| Leu Gly Ile Thr Glu Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly | |
| 145 150 155 160 | |
| gcc cgg gcc ctg gaa tgg gtg gtc ggc tac ccg gat cgg gtc cga gcc | 528 |
| Ala Arg Ala Leu Glu Trp Val Val Gly Tyr Pro Asp Arg Val Arg Ala | |
| 165 170 175 | |
| gga ttg ctg ctg gcg gtc ggt gcg cgt gcc acc gca gac cag atc ggc | 576 |
| Gly Leu Leu Leu Ala Val Gly Ala Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly | |
| 180 185 190 | |
| acg cag aca acg caa atc gcg gcc atc aaa gcc gac ccg gac tgg cag | 624 |
| Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Ala Asp Pro Asp Trp Gln | |
| 195 200 205 | |
| agc ggc gac tac cac gag acg ggg agg gca cca gac gcc ggg ctg cga | 672 |
| Ser Gly Asp Tyr His Glu Thr Gly Arg Ala Pro Asp Ala Gly Leu Arg | |
| 210 215 220 | |
| ctc gcc cgc cgc ttc gcg cac ctc acc tac cgc ggc gag atc gag ctc | 720 |
| Leu Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Ile Glu Leu | |
| 225 230 235 240 | |
| gac acc cgg ttc gcc aac cac aac cag ggc aac gag gat ccg acg gcc | 768 |
| Asp Thr Arg Phe Ala Asn His Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Thr Ala | |
| 245 250 255 | |
| ggc ggg cgc tac gcg gtg caa agt tat ctg gaa cac caa gga gac aaa | 816 |
| Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys | |
| 260 265 270 | |
| ctg tta tcc cgg ttc gac gcc ggc agc tac gtg att ctc acc gag gcg | 864 |
| Leu Leu Ser Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Ile Leu Thr Glu Ala | |
| 275 280 285 | |
| ctc aac agc cac gac gtc ggc cgc ggc cgc ggc ggc gtc tcc gcg gct | 912 |
| Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Val Ser Ala Ala | |
| 290 295 300 | |
| ctg cgc gcc tgc ccg gtg ccg gtg gtg gtg ggc ggc atc acc tcc gac | 960 |
| Leu Arg Ala Cys Pro Val Pro Val Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp | |
| 305 310 315 320 | |
| cgg ctc tac ccg ctg cgc ctg cag cag gag ctg gcc gac ctg ctg ccg | 1008 |
| Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Asp Leu Leu Pro | |
| 325 330 335 | |
| ggc tgc gcc ggg ctg cga gtc gtc gag tgc gtc tac gga cac gac ggc | 1056 |
| Gly Cys Ala Gly Leu Arg Val Val Glu Ser Val Tyr Gly His Asp Gly | |
| 340 345 350 | |
| ttc ctg gtg gaa acc gag gcc gtg ggc gaa ttg atc cgc cag aca ctg | 1104 |
| Phe Leu Val Glu Thr Glu Ala Val Gly Glu Leu Ile Arg Gln Thr Leu | |
| 355 360 365 | |

gga ttg gct gat cgt gaa ggc gcg tgt cgg cgg tga
 Gly Leu Ala Asp Arg Glu Gly Ala Cys Arg Arg
 370 375

1140

<210> 6
 <211> 379
 <212> PRT
 <213> Mycobacterium tuberculosis

<400> 6

Met Thr Ile Ser Asp Val Pro Thr Gln Thr Leu Pro Ala Glu Gly Glu
 1 5 10 15

Ile Gly Leu Ile Asp Val Gly Ser Leu Gln Leu Glu Ser Gly Ala Val
 20 25 30

Ile Asp Asp Val Cys Ile Ala Val Gln Arg Trp Gly Lys Leu Ser Pro
 35 40 45

Ile Arg Asp Asn Val Val Val Leu His Ala Leu Thr Gly Asp Ser
 50 55 60

His Ile Thr Gly Pro Ala Gly Pro Gly His Pro Thr Pro Gly Trp Trp
 65 70 75 80

Asp Gly Val Ala Gly Pro Ser Ala Pro Ile Asp Thr Thr Arg Trp Cys
 85 90 95

Ala Val Ala Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Arg Gly Ser Thr Gly Pro
 100 105 110

Ser Ser Leu Ala Arg Asp Gly Lys Pro Trp Gly Ser Arg Phe Pro Leu
 115 120 125

Ile Ser Ile Arg Asp Gln Val Gln Ala Asp Val Ala Ala Leu Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Ile Thr Glu Val Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly
 145 150 155 160

Ile Arg Ala Leu Glu Trp Val Val Gly Tyr Pro Asp Arg Val Arg Ala
 165 170 175

Gly Leu Leu Leu Ala Val Gly Ala Arg Ala Thr Ala Asp Gln Ile Gly
 180 185 190

Thr Gln Thr Thr Gln Ile Ala Ala Ile Lys Ala Asp Pro Asp Trp Gln
 195 200 205

Ser Gly Asp Tyr His Glu Thr Gly Arg Ala Pro Asp Ala Gly Leu Arg
 210 215 220

Leu Ala Arg Arg Phe Ala His Leu Thr Tyr Arg Gly Glu Ile Glu Leu
 225 230 235 240

Asp Thr Arg Phe Ala Asn His Asn Gln Gly Asn Glu Asp Pro Thr Ala
 245 250 255

Gly Gly Arg Tyr Ala Val Gln Ser Tyr Leu Glu His Gln Gly Asp Lys
 260 265 270

Leu Leu Ser Arg Phe Asp Ala Gly Ser Tyr Val Ile Leu Thr Glu Ala

| | | |
|---|-----|-----|
| 275 | 280 | 285 |
| Leu Asn Ser His Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Val Ser Ala Ala | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Leu Arg Ala Cys Pro Val Pro Val Val Val Gly Gly Ile Thr Ser Asp | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Arg Leu Tyr Pro Leu Arg Leu Gln Gln Glu Leu Ala Asp Leu Leu Pro | | |
| | 325 | 330 |
| Gly Cys Ala Gly Leu Arg Val Val Glu Ser Val Tyr Gly His Asp Gly | | |
| | 340 | 345 |
| Phe Leu Val Glu Thr Glu Ala Val Gly Glu Leu Ile Arg Gln Thr Leu | | |
| | 355 | 360 |
| Gly Leu Ala Asp Arg Glu Gly Ala Cys Arg Arg | | |
| 370 | 375 | |

<210> 7

<211> 972

<212> DNA

<213> Chlorobium tepidum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(969)

<223> RCL01447

<400> 7

| | |
|---|----|
| gtg agg gtc gct tac cgt acc tgg ggt acg cta aac gca gag aaa agc | 48 |
| Val Arg Val Ala Tyr Arg Thr Trp Gly Thr Leu Asn Ala Glu Lys Ser | |
| 1 | 5 |

| | |
|---|----|
| aac gtg att ctg gtc tgc cac gcg ctg acc ggc aac gcc gac gcc gac | 96 |
| Asn Val Ile Leu Val Cys His Ala Leu Thr Gly Asn Ala Asp Ala Asp | |
| | 20 |

| | |
|---|-----|
| ggc tgg tgg tgc ggc atg ttc ggt gag gga cgg gcg ttc gac gag act | 144 |
| Trp Trp Trp Cys Gly Met Phe Gly Glu Gly Arg Ala Phe Asp Glu Thr | |
| | 35 |

| | |
|---|-----|
| cgg gac ttc atc gta tgc agc aac gtg ctt gga agc tgc tac gga acg | 192 |
| Arg Asp Phe Ile Val Cys Ser Asn Val Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Thr | |
| | 50 |

| | |
|---|-----|
| acc ggg ccg atg tcg gtg aat ccg ctg agt ggc agg cac tac ggt ccc | 240 |
| Thr Gly Pro Met Ser Val Asn Pro Leu Ser Gly Arg His Tyr Gly Pro | |
| | 65 |

| | |
|---|-----|
| gat ttt ccg cgc att acc att cgc gac atg gtg aat gtt cag cga tta | 288 |
| Asp Phe Pro Arg Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Asn Val Gln Arg Leu | |
| | 85 |

| | |
|---|-----|
| ttg ctt cgt tcg ctc ggc atc gac cgg atc cgg ctc atc gtt ggt gca | 336 |
| Leu Leu Arg Ser Leu Gly Ile Asp Arg Ile Arg Leu Ile Val Gly Ala | |
| | 100 |

| | |
|---|-----|
| tcg ctt ggc ggg atg cag gtg ctc gaa tgg ggc gca atg tat ccc gaa | 384 |
| Ser Leu Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Gly Ala Met Tyr Pro Glu | |
| | 115 |

| | |
|---|-----|
| atg gcc ggg gcg ctg atg ccg atg ggc gtt tgc ggt cgt cat tgc gcg | 432 |
| Met Ala Gly Ala Leu Met Pro Met Gly Val Ser Gly Arg His Ser Ala | |
| 130 135 140 | |
| tgg tgc atc gcg cag agc gag gcg cag cgg cag gct atc gcc gcc gat | 480 |
| Trp Cys Ile Ala Gln Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ala Ile Ala Ala Asp | |
| 145 150 155 160 | |
| gcg gag tgg caa gat ggc tgg tat gat ccg gag gtg cag cca cgc aaa | 528 |
| Ala Glu Trp Gln Asp Gly Trp Tyr Asp Pro Glu Val Gln Pro Arg Lys | |
| 165 170 175 | |
| gga ctt gcc gcc gcg cgg atg atg gcg atg tgc acc tac cgc tgc ttc | 576 |
| Gly Leu Ala Ala Ala Arg Met Met Ala Met Cys Thr Tyr Arg Cys Phe | |
| 180 185 190 | |
| gag aac tac cag caa cgc ttt ggc cgc aag cag cgc gag gac ggc ttg | 624 |
| Glu Asn Tyr Gln Gln Arg Phe Gly Arg Lys Gln Arg Glu Asp Gly Leu | |
| 195 200 205 | |
| tc gaa gcc gaa agc tac gtg cgt cac cag ggc gac aag ctg gtt ggg | 672 |
| Phe Glu Ala Glu Ser Tyr Val Arg His Gln Gly Asp Lys Leu Val Gly | |
| 210 215 220 | |
| cgc ttt gat gca aac acc tat atc acg ctc acc aga gcg atg gac atg | 720 |
| Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Ile Thr Leu Thr Arg Ala Met Asp Met | |
| 225 230 235 240 | |
| cac gac ctc ggg cgc gga cgc gac tcc tac gaa gcg gcg ctc gga gcg | 768 |
| His Asp Leu Gly Arg Gly Arg Asp Ser Tyr Glu Ala Ala Leu Gly Ala | |
| 245 250 255 | |
| ctg aag atg ccg gtc gag att ctc tcc atc gac tgc gac gtg ctc tat | 816 |
| Leu Lys Met Pro Val Glu Ile Leu Ser Ile Asp Ser Asp Val Leu Tyr | |
| 260 265 270 | |
| ccc agg cag gag cag gag gaa ctt gcc cgc ctc att ccc ggc tca cgc | 864 |
| Pro Arg Gln Glu Gln Glu Glu Leu Ala Arg Leu Ile Pro Gly Ser Arg | |
| 275 280 285 | |
| g ctt ttc ctt gac gaa ccc tat ggc cac gac gcc ttt ctt atc gac | 912 |
| Leu Leu Phe Leu Asp Glu Pro Tyr Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Asp | |
| 290 295 300 | |
| acc gag acc gtc agc cgc atg gtc tgc gag ttc aag agg cag ttg ata | 960 |
| Thr Glu Thr Val Ser Arg Met Val Cys Glu Phe Lys Arg Gln Leu Ile | |
| 305 310 315 320 | |
| gtt gac aat tga | 972 |
| Val Asp Asn | |

<210> 8

<211> 323

<212> PRT

<213> Chlorobium tepidum

<400> 8

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Val | Ala | Tyr | Arg | Thr | Trp | Gly | Thr | Leu | Asn | Ala | Glu | Lys | Ser |
| 1 | | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | |

M/43127

MetA

Asn Val Ile Leu Val Cys His Ala Leu Thr Gly Asn Ala Asp Ala Asp
 20 25 30
 Ser Trp Trp Cys Gly Met Phe Gly Glu Gly Arg Ala Phe Asp Glu Thr
 35 40 45
 Arg Asp Phe Ile Val Cys Ser Asn Val Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Thr
 50 55 60
 Thr Gly Pro Met Ser Val Asn Pro Leu Ser Gly Arg His Tyr Gly Pro
 65 70 75 80
 Asp Phe Pro Arg Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Asn Val Gln Arg Leu
 85 90 95
 Leu Leu Arg Ser Leu Gly Ile Asp Arg Ile Arg Leu Ile Val Gly Ala
 100 105 110
 Ser Leu Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Gly Ala Met Tyr Pro Glu
 115 120 125
 Met Ala Gly Ala Leu Met Pro Met Gly Val Ser Gly Arg His Ser Ala
 130 135 140
 Trp Cys Ile Ala Gln Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ala Ile Ala Ala Asp
 145 150 155 160
 Ala Glu Trp Gln Asp Gly Trp Tyr Asp Pro Glu Val Gln Pro Arg Lys
 165 170 175
 Gly Leu Ala Ala Ala Arg Met Met Ala Met Cys Thr Tyr Arg Cys Phe
 180 185 190
 Glu Asn Tyr Gln Gln Arg Phe Gly Arg Lys Gln Arg Glu Asp Gly Leu
 195 200 205
 Phe Glu Ala Glu Ser Tyr Val Arg His Gln Gly Asp Lys Leu Val Gly
 210 215 220
 Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Ile Thr Leu Thr Arg Ala Met Asp Met
 225 230 235 240
 His Asp Leu Gly Arg Gly Arg Asp Ser Tyr Glu Ala Ala Leu Gly Ala
 245 250 255
 Leu Lys Met Pro Val Glu Ile Leu Ser Ile Asp Ser Asp Val Leu Tyr
 260 265 270
 Pro Arg Gln Glu Gln Glu Glu Leu Ala Arg Leu Ile Pro Gly Ser Arg
 275 280 285
 Leu Leu Phe Leu Asp Glu Pro Tyr Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Asp
 290 295 300
 Thr Glu Thr Val Ser Arg Met Val Cys Glu Phe Lys Arg Gln Leu Ile
 305 310 315 320
 Val Asp Asn

<210> 9

M/43127

MetA

<211> 1149
 <212> DNA
 <213> *Caulobacter crescentus*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1146)
 <223> RCO00727

<400> 9
 atg gct gcg ctc gat ccg atc acg ccc gcc ggc ggg gga acc tgg cgg 48
 Met Ala Ala Leu Asp Pro Ile Thr Pro Ala Gly Gly Gly Thr Trp Arg
 1 5 10 15

ttt cct gcg aat gaa cct ctg cgg ctg gac tcc gga ggc gtc atc gaa 96
 Phe Pro Ala Asn Glu Pro Leu Arg Leu Asp Ser Gly Gly Val Ile Glu
 20 25 30

ggg ctg gaa atc gcc tac cag acc tac ggc cag ctg aac gcg gac aag 144
 Gly Leu Glu Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly Gln Leu Asn Ala Asp Lys
 35 40 45

acc aac gcc gtc ctg atc tgc cac gcc ctg acg ggc gac cag cat gtg 192
 Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Asp Gln His Val
 50 55 60

gcc tcg ccc cac ccc acc acc ggc aag ccc ggc tgg tgg caa cgc ctt 240
 Ala Ser Pro His Pro Thr Thr Gly Lys Pro Gly Trp Trp Gln Arg Leu
 65 70 75 80

gtt ggt ccc ggt aag ccg ctg gat ccc gcg cgg cac ttc atc atc tgc 288
 Val Gly Pro Gly Lys Pro Leu Asp Pro Ala Arg His Phe Ile Ile Cys
 85 90 95

tcg aac gtg atc ggc ggc tgc atg ggc tcg acg ggc ccg gcc tcg atc 336
 Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Met Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Ile
 100 105 110

aat ccg gcc acg ggc aag acc tat ggc ctg tcg ttc cca gtc atc acc 384
 Asn Pro Ala Thr Gly Lys Thr Tyr Gly Leu Ser Phe Pro Val Ile Thr
 115 120 125

c gcc gat atg gtg cgg gcc cag gcc atg ctg gtc tct gcg ctc ggg 432
 Ile Ala Asp Met Val Arg Ala Gln Ala Met Leu Val Ser Ala Leu Gly
 130 135 140

gtc gag acc ctg ttc gcc gtc gtc ggc ggc tcg atg ggc ggc atg cag 480
 Val Glu Thr Leu Phe Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Gln
 145 150 155 160

gtc cag caa tgg gcc gtg gac tat ccc gag cgg atg ttc agc gcc gtg 528
 Val Gln Gln Trp Ala Val Asp Tyr Pro Glu Arg Met Phe Ser Ala Val
 165 170 175

gtg ctg gcc tcg gcc tcg cgc cac tcg gcc cag aac atc gcg ttc cac 576
 Val Leu Ala Ser Ala Ser Arg His Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe His
 180 185 190

gag gtg ggc cgc cag gcg atc atg gcc gat ccc gac tgg cgc ggc ggc 624
 Glu Val Gly Arg Gln Ala Ile Met Ala Asp Pro Asp Trp Arg Gly Gly
 195 200 205

gcc tat gcc gag cac ggc gtg cgg ccc gag aag ggc ctg gcc gtg gcg 672

Ala Tyr Ala Glu His Gly Val Arg Pro Glu Lys Gly Leu Ala Val Ala
 210 215 220

cgg atg gcc gcg cac atc acc tat ctg tcc gag ccc gcc ctg cag cgg 720
 Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser Glu Pro Ala Leu Gln Arg
 225 230 235 240

aag ttc ggc cgc gag cta cag cgc gac ggc ctc tcc tgg ggc ttt gac 768
 Lys Phe Gly Arg Glu Leu Gln Arg Asp Gly Leu Ser Trp Gly Phe Asp
 245 250 255

gcc gac ttc cag gtc gag agc tat cta cgc cac cag ggg tcc agc ttc 816
 Ala Asp Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg His Gln Gly Ser Ser Phe
 260 265 270

gtc gac cgg ttc gac gcc aac agc tat ctc tac atc acc cgg gcc atg 864
 Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu Tyr Ile Thr Arg Ala Met
 275 280 285

gac tat ttc gac atc gcc gcc agc cat ggc ggg gtg ctg gcc aag gcg 912
 Asp Tyr Phe Asp Ile Ala Ala Ser His Gly Gly Val Leu Ala Lys Ala
 290 295 300

ttc acc cga gcg cgg aat gtg cgc ttc tgc gtg ctg agc ttc tcc agc 960
 Phe Thr Arg Ala Arg Asn Val Arg Phe Cys Val Leu Ser Phe Ser Ser
 305 310 315 320

gac tgg ctc tat ccg acc gcc gag aac cgc cac ctg gtc cgc gcc ctg 1008
 Asp Trp Leu Tyr Pro Thr Ala Glu Asn Arg His Leu Val Arg Ala Leu
 325 330 335

acc gcc gcc ggg gcc cgc gcg gcc ttc gcc gag atc gag agc gac aag 1056
 Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ala Ala Phe Ala Glu Ile Glu Ser Asp Lys
 340 345 350

ggc cat gac gcc ttc ctg ctg gac gag ccg gtg atg gac gcc gcg ctg 1104
 Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro Val Met Asp Ala Ala Leu
 355 360 365

gaa ggc ttc ctg gcc tcg gcc gaa cgc gat cgg ggg ctg gtt 1146
 Glu Gly Phe Leu Ala Ser Ala Glu Arg Asp Arg Gly Leu Val
 370 375 380

tga 1149

<210> 10

<211> 382

<212> PRT

<213> *Caulobacter crescentus*

<400> 10

Met Ala Ala Leu Asp Pro Ile Thr Pro Ala Gly Gly Gly Thr Trp Arg
 1 5 10 15

Phe Pro Ala Asn Glu Pro Leu Arg Leu Asp Ser Gly Gly Val Ile Glu
 20 25 30

Gly Leu Glu Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly Gln Leu Asn Ala Asp Lys
 35 40 45

Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Asp Gln His Val
 50 55 60

Ala Ser Pro His Pro Thr Thr Gly Lys Pro Gly Trp Trp Gln Arg Leu
 65 70 75 80
 Val Gly Pro Gly Lys Pro Leu Asp Pro Ala Arg His Phe Ile Ile Cys
 85 90 95
 Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Met Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Ile
 100 105 110
 Asn Pro Ala Thr Gly Lys Thr Tyr Gly Leu Ser Phe Pro Val Ile Thr
 115 120 125
 Ile Ala Asp Met Val Arg Ala Gln Ala Met Leu Val Ser Ala Leu Gly
 130 135 140
 Val Glu Thr Leu Phe Ala Val Val Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Gln
 145 150 155 160
 Val Gln Gln Trp Ala Val Asp Tyr Pro Glu Arg Met Phe Ser Ala Val
 165 170 175
 Val Leu Ala Ser Ala Ser Arg His Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe His
 180 185 190
 Glu Val Gly Arg Gln Ala Ile Met Ala Asp Pro Asp Trp Arg Gly Gly
 195 200 205
 Ala Tyr Ala Glu His Gly Val Arg Pro Glu Lys Gly Leu Ala Val Ala
 210 215 220
 Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser Glu Pro Ala Leu Gln Arg
 225 230 235 240
 Lys Phe Gly Arg Glu Leu Gln Arg Asp Gly Leu Ser Trp Gly Phe Asp
 245 250 255
 Ala Asp Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg His Gln Gly Ser Ser Phe
 260 265 270
 Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu Tyr Ile Thr Arg Ala Met
 275 280 285
 Asp Tyr Phe Asp Ile Ala Ala Ser His Gly Gly Val Leu Ala Lys Ala
 290 295 300
 Phe Thr Arg Ala Arg Asn Val Arg Phe Cys Val Leu Ser Phe Ser Ser
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Tyr Pro Thr Ala Glu Asn Arg His Leu Val Arg Ala Leu
 325 330 335
 Thr Ala Ala Gly Ala Arg Ala Ala Phe Ala Glu Ile Glu Ser Asp Lys
 340 345 350
 Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro Val Met Asp Ala Ala Leu
 355 360 365
 Glu Gly Phe Leu Ala Ser Ala Glu Arg Asp Arg Gly Leu Val
 370 375 380

<210> 11

M/43127

MetA

<211> 1140
 <212> DNA
 <213> Neisseria gonorrhoeae

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1137)
 <223> RNG00132

<400> 11

| | |
|---|-----|
| atg agt caa aat acc tcg gtg ggc att gta acg ccc caa aaa att ccg | 48 |
| Met Ser Gln Asn Thr Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro | |
| 1 5 10 15 | |
| ttt gaa atg ccg ctg gtt ttg gaa aac ggt aaa act ttg ccg cgt ttc | 96 |
| Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe | |
| 20 25 30 | |
| gat ctg atg att gaa acc tac ggc gag ctg aat gct gaa aaa aac aat | 144 |
| Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn | |
| 35 40 45 | |
| gcg gtt tta atc tgc cac gcg ctg tcg ggc aac cat cac gtt gcg ggc | 192 |
| Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly | |
| 50 55 60 | |
| agg cat tcg gcg gag gat aaa tat acg ggc tgg tgg gac aat atg gtc | 240 |
| Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val | |
| 65 70 75 80 | |
| ggg ccc gga aaa ccg att gat acg gaa cgt ttt ttc gtg gtc ggg ttg | 288 |
| Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu | |
| 85 90 95 | |
| aac aat ctg ggc ggc tgc gac ggc agc agc ggg cct ttg tcg atc aat | 336 |
| Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn | |
| 100 105 110 | |
| cct gaa acg ggc agg gaa tac ggc gcg gat ttt ccg atg gtt acg gtg | 384 |
| Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met Val Thr Val | |
| 115 120 125 | |
| g gac tgg gta aaa tca caa gcc gcg ctt gcc gat tat ctc ggc atc | 432 |
| Lys Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Ala Asp Tyr Leu Gly Ile | |
| 130 135 140 | |
| gaa caa tgg gcg gcg gtt gtc ggc ggc agc ttg ggc ggc atg cag gct | 480 |
| Glu Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala | |
| 145 150 155 160 | |
| ttg cag tgg gcg att tcc tat ccc gaa cgt gtg cgc cac gcc ttg gtg | 528 |
| Leu Gln Trp Ala Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val | |
| 165 170 175 | |
| att gcg tct gcg ccg aaa ctg tcc gcg caa aat atc gcg ttt aat gat | 576 |
| Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp | |
| 180 185 190 | |
| gta gca cgt cag gcg att ttg acc gac ccc gat ttc aat gaa gga cat | 624 |
| Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His | |
| 195 200 205 | |
| tac cgc agc cac aac acc gtt ccc gcg cgc ggt ttg cgg att gcc cgt | 672 |

Tyr Arg Ser His Asn Thr Val Pro Ala Arg Gly Leu Arg Ile Ala Arg
 210 215 220

atg atg gga cac att acg tat ctt gcc gaa gac ggt ttg ggc aaa aaa 720
 Met Met Gly His Ile Thr Tyr Leu Ala Glu Asp Gly Leu Gly Lys Lys
 225 230 235 240

ttc gga cgc gat ttg cgt tcc aac ggc tat caa tac ggc tat agc gtt 768
 Phe Gly Arg Asp Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Gln Tyr Gly Tyr Ser Val
 245 250 255

gaa ttt gaa gta gaa tcc tat ctc cgc tat caa ggc gac aaa ttc gtc 816
 Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys Phe Val
 260 265 270

ggg cgg ttt gat gct aat aca tat ttg ctg atg acc aaa gct ttg gac 864
 Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala Leu Asp
 275 280 285

tat ttc gat ccg gcg gcg gat ttc ggc aac agc ctg acc cgc gcc gtg 912
 Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asp Phe Gly Asn Ser Leu Thr Arg Ala Val
 290 295 300

cag gat gtg cag gca aaa ttc ttt gtc gcc agc ttc agc acc gac tgg 960
 Gln Asp Val Gln Ala Lys Phe Phe Val Ala Ser Phe Ser Thr Asp Trp
 305 310 315 320

cgt ttc gcg ccc gaa cgt tcg cac gaa ctg gtc aag gca ctg att gcc 1008
 Arg Phe Ala Pro Glu Arg Ser His Glu Leu Val Lys Ala Leu Ile Ala
 325 330 335

gcc caa aaa tcc gtg cag tat atc gaa gtc aag tcc gca cac ggg cac 1056
 Ala Gln Lys Ser Val Gln Tyr Ile Glu Val Lys Ser Ala His Gly His
 340 345 350

gat gcc ttt tta atg gaa gac gaa gcc tat atg cgc gcc gta acg gct 1104
 Asp Ala Phe Leu Met Glu Asp Glu Ala Tyr Met Arg Ala Val Thr Ala
 355 360 365

tat atg aac aat gtt gac aag gat tgc cga tta tga 1140
 Tyr Met Asn Asn Val Asp Lys Asp Cys Arg Leu
 370 375

<210> 12

<211> 379

<212> PRT

<213> Neisseria gonorrhoeae

<400> 12

Met Ser Gln Asn Thr Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro
 1 5 10 15

Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe
 20 25 30

Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn
 35 40 45

Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly
 50 55 60

Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val
 65 70 75 80
 Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu
 85 90 95
 Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn
 100 105 110
 Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met Val Thr Val
 115 120 125
 Lys Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Ala Asp Tyr Leu Gly Ile
 130 135 140
 Glu Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala
 145 150 155 160
 Leu Gln Trp Ala Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val
 165 170 175
 e Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp
 180 185 190
 Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His
 195 200 205
 Tyr Arg Ser His Asn Thr Val Pro Ala Arg Gly Leu Arg Ile Ala Arg
 210 215 220
 Met Met Gly His Ile Thr Tyr Leu Ala Glu Asp Gly Leu Gly Lys Lys
 225 230 235 240
 Phe Gly Arg Asp Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Gln Tyr Gly Tyr Ser Val
 245 250 255
 Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys Phe Val
 260 265 270
 Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala Leu Asp
 275 280 285
 r Phe Asp Pro Ala Ala Asp Phe Gly Asn Ser Leu Thr Arg Ala Val
 290 295 300
 Gln Asp Val Gln Ala Lys Phe Phe Val Ala Ser Phe Ser Thr Asp Trp
 305 310 315 320
 Arg Phe Ala Pro Glu Arg Ser His Glu Leu Val Lys Ala Leu Ile Ala
 325 330 335
 Ala Gln Lys Ser Val Gln Tyr Ile Glu Val Lys Ser Ala His Gly His
 340 345 350
 Asp Ala Phe Leu Met Glu Asp Glu Ala Tyr Met Arg Ala Val Thr Ala
 355 360 365
 Tyr Met Asn Asn Val Asp Lys Asp Cys Arg Leu
 370 375

<210> 13

<211> 1140

M/43127

MetA

<212> DNA

<213> Neisseria meningitidis ser. A

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1137)

<223> RNM00815

<400> 13

| | |
|---|-----|
| atg agt caa aat gcc tcg gtg ggc att gta acg ccc caa aaa att ccg | 48 |
| Met Ser Gln Asn Ala Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro | |
| 1 5 10 15 | |
| ttt gaa atg ccg ctg gtt ttg gaa aac ggt aaa act ttg ccg cgt ttc | 96 |
| Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe | |
| 20 25 30 | |
| gat ctg atg att gaa acc tac ggc gag ctg aat gcc gaa aaa aat aat | 144 |
| Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn | |
| 35 40 45 | |
| cg gtt tta atc tgt cat gcg ctg tca ggc aac cat cat gtt gcg ggc | 192 |
| Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly | |
| 50 55 60 | |
| agg cat tcg gcg gag gat aaa tat acg ggc tgg tgg gac aat atg gta | 240 |
| Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val | |
| 65 70 75 80 | |
| gga ccc ggc aaa ccg att gat aca gaa cgt ttt ttc gtg gtc ggt ttg | 288 |
| Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Glu Arg Phe Phe Val Val Gly Leu | |
| 85 90 95 | |
| aac aat ctg ggc ggc tgc gac ggc agc agc gga cct ttg tcg atc aat | 336 |
| Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asp Gly Ser Ser Gly Pro Leu Ser Ile Asn | |
| 100 105 110 | |
| cct gaa acg ggc agg gaa tac ggc gcg gat ttt ccg gtg gtt acg gtg | 384 |
| Pro Glu Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Val Val Thr Val | |
| 115 120 125 | |
| g gac tgg gta aaa tcc caa gcc gcg ctt acc gat tat ctc ggc atc | 432 |
| s Asp Trp Val Lys Ser Gln Ala Ala Leu Thr Asp Tyr Leu Gly Ile | |
| 130 135 140 | |
| ggg caa tgg gcg gcg gtt gtc ggc ggc agc ttg ggc ggt atg cag gct | 480 |
| Gly Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala | |
| 145 150 155 160 | |
| ttg cag tgg acg att tcc tat ccc gag cgc gtg cgc cat gcc tta gtg | 528 |
| Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His Ala Leu Val | |
| 165 170 175 | |
| att gcg tcc gcg ccg aaa ctg tcc acg caa aat atc gcg ttt aat gat | 576 |
| Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Thr Gln Asn Ile Ala Phe Asn Asp | |
| 180 185 190 | |
| gta gca cgt cag gcg att ttg acc gat ccc gat ttc aac gaa gga cat | 624 |
| Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe Asn Glu Gly His | |
| 195 200 205 | |
| tac cgc agc cgc aac acc gtt ccc gct cgg ggc ttg cgg att gcc cgc | 672 |
| Tyr Arg Ser Arg Asn Thr Val Pro Ala Arg Gly Leu Arg Ile Ala Arg | |

| 210 | 215 | 220 | |
|---|-----|-----|------|
| atg atg ggg cac atc acc tat ctt gcc gaa gac ggt ttg ggc aaa aaa | | | 720 |
| Met Met Gly His Ile Thr Tyr Leu Ala Glu Asp Gly Leu Gly Lys Lys | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| ttc gga cgc gat ttg cgt tcc aac ggc tat caa tac ggc tat ggc gtt | | | 768 |
| Phe Gly Arg Asp Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Gln Tyr Gly Tyr Gly Val | | | |
| | 245 | 250 | 255 |
| gaa ttt gaa gta gaa tcc tat ctg cgc tat caa ggc gat aaa ttc gtc | | | 816 |
| Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys Phe Val | | | |
| | 260 | 265 | 270 |
| ggg cgg ttt gat gcc aac acc tat ttg ctg atg acc aag gct ttg gac | | | 864 |
| Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr Lys Ala Leu Asp | | | |
| | 275 | 280 | 285 |
| tat ttc gat ccg gcg gcg gat ttc ggc aac agc ctg acc cgc gcc gtg | | | 912 |
| Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asp Phe Gly Asn Ser Leu Thr Arg Ala Val | | | |
| | 290 | 295 | 300 |
| cag gat gtt cag gca aaa ttc ttt gtc gcc agc ttc agc acc gat tgg | | | 960 |
| Gln Asp Val Gln Ala Lys Phe Phe Val Ala Ser Phe Ser Thr Asp Trp | | | |
| | 305 | 310 | 320 |
| cgt ttc gcg ccc gaa cgt tcg cac gaa ctg gtc aag gcc ctg att gcc | | | 1008 |
| Arg Phe Ala Pro Glu Arg Ser His Glu Leu Val Lys Ala Leu Ile Ala | | | |
| | 325 | 330 | 335 |
| gcc caa aaa tcc gtg cag tat atc gaa gtc aaa tcc gca cac ggg cac | | | 1056 |
| Ala Gln Lys Ser Val Gln Tyr Ile Glu Val Lys Ser Ala His Gly His | | | |
| | 340 | 345 | 350 |
| gat gcc ttt tta atg gaa gac gaa gcc tat atg cgt gcg gtc gcc gcc | | | 1104 |
| Asp Ala Phe Leu Met Glu Asp Glu Ala Tyr Met Arg Ala Val Ala Ala | | | |
| | 355 | 360 | 365 |
| tat atg aac aac gtt tat aag gaa tgt cag caa tga | | | 1140 |
| Tyr Met Asn Asn Val Tyr Lys Glu Cys Gln Gln | | | |
| | 370 | 375 | |
| <210> 14 | | | |
| <211> 379 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Neisseria meningitidis ser. A | | | |
| <400> 14 | | | |
| Met Ser Gln Asn Ala Ser Val Gly Ile Val Thr Pro Gln Lys Ile Pro | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Phe Glu Met Pro Leu Val Leu Glu Asn Gly Lys Thr Leu Pro Arg Phe | | | |
| | 20 | 25 | 30 |
| Asp Leu Met Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn | | | |
| | 35 | 40 | 45 |
| Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val Ala Gly | | | |
| | 50 | 55 | 60 |
| Arg His Ser Ala Glu Asp Lys Tyr Thr Gly Trp Trp Asp Asn Met Val | | | |
| | 65 | 70 | 75 |
| | | | 80 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|------------|-----|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Gly | Pro | Gly | Lys | Pro 85 | Ile | Asp | Thr | Glu | Arg 90 | Phe | Phe | Val | Val | Gly 95 | Leu |
| Asn | Asn | Leu | Gly 100 | Gly | Cys | Asp | Gly | Ser 105 | Ser | Gly | Pro | Leu | Ser 110 | Ile | Asn |
| Pro | Glu | Thr | Gly 115 | Arg | Glu | Tyr | Gly 120 | Ala | Asp | Phe | Pro | Val 125 | Val | Thr | Val |
| Lys | Asp 130 | Trp | Val | Lys | Ser | Gln 135 | Ala | Ala | Leu | Thr | Asp 140 | Tyr | Leu | Gly | Ile |
| Gly 145 | Gln | Trp | Ala | Ala | Val 150 | Val | Gly | Gly | Ser | Leu 155 | Gly | Gly | Met | Gln | Ala 160 |
| Leu | Gln | Trp | Thr | Ile 165 | Ser | Tyr | Pro | Glu | Arg 170 | Val | Arg | His | Ala | Leu 175 | Val |
| Ile | Ala | Ser | Ala 180 | Pro | Lys | Leu | Ser | Thr 185 | Gln | Asn | Ile | Ala | Phe 190 | Asn | Asp |
| Val | Ala | Arg | Gln 195 | Ala | Ile | Leu | Thr 200 | Asp | Pro | Asp | Phe | Asn 205 | Glu | Gly | His |
| Tyr | Arg 210 | Ser | Arg | Asn | Thr | Val 215 | Pro | Ala | Arg | Gly | Leu 220 | Arg | Ile | Ala | Arg |
| Met 225 | Met | Gly | His | Ile | Thr 230 | Tyr | Leu | Ala | Glu | Asp 235 | Gly | Leu | Gly | Lys | Lys 240 |
| Phe | Gly | Arg | Asp | Leu 245 | Arg | Ser | Asn | Gly | Tyr 250 | Gln | Tyr | Gly | Tyr | Gly 255 | Val |
| Glu | Phe | Glu | Val 260 | Glu | Ser | Tyr | Leu | Arg 265 | Tyr | Gln | Gly | Asp | Lys 270 | Phe | Val |
| Gly | Arg | Phe | Asp 275 | Ala | Asn | Thr | Tyr 280 | Leu | Leu | Met | Thr | Lys 285 | Ala | Leu | Asp |
| Tyr | Phe 290 | Asp | Pro | Ala | Ala | Asp 295 | Phe | Gly | Asn | Ser | Leu 300 | Thr | Arg | Ala | Val |
| Gln 305 | Asp | Val | Gln | Ala | Lys 310 | Phe | Phe | Val | Ala | Ser 315 | Phe | Ser | Thr | Asp | Trp 320 |
| Arg | Phe | Ala | Pro | Glu 325 | Arg | Ser | His | Glu | Leu 330 | Val | Lys | Ala | Leu | Ile 335 | Ala |
| Ala | Gln | Lys | Ser 340 | Val | Gln | Tyr | Ile | Glu 345 | Val | Lys | Ser | Ala | His 350 | Gly | His |
| Asp | Ala | Phe | Leu | Met | Glu | Asp | Glu 360 | Ala | Tyr | Met | Arg | Ala 365 | Val | Ala | Ala |
| Tyr 370 | Met | Asn | Asn | Val | Tyr | Lys 375 | Glu | Cys | Gln | Gln | | | | | |

```
<210> 15
<211> 1140
<212> DNA
<213> Pseudomonas fluorescens
```

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1137)
 <223> RPU01633

<400> 15

| | |
|---|-----|
| atg cca gct gcc ttt ccc ccc gat tct gtt ggt ctg gtg acg ccg caa | 48 |
| Met Pro Ala Ala Phe Pro Pro Asp Ser Val Gly Leu Val Thr Pro Gln | |
| 1 5 10 15 | |
| acg gcg cac ttc agc gaa ccg ctg gcc ctg gcc tgc ggc cgt tcg ctg | 96 |
| Thr Ala His Phe Ser Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu | |
| 20 25 30 | |
| gcc gat tat gac ctg atc tac gaa acc tac ggc acg ctg aac gcg caa | 144 |
| Ala Asp Tyr Asp Leu Ile Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Gln | |
| 35 40 45 | |
| gcg agc aac gcc gtg ctg atc tgc cac gcc ttg tcc ggc cac cac cat | 192 |
| Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His | |
| 50 55 60 | |
| gct gcg ggt tat cac agc gtc gac gac cgc aag ccc ggt tgg tgg gac | 240 |
| Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| agc tgc atc ggc ccc ggc aaa ccg atc gac acc aac aag ttc ttc gtg | 288 |
| Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Lys Phe Phe Val | |
| 85 90 95 | |
| gtc agc ctg aac aac ctc ggc ggt tgc aat ggt tct acc ggc ccg agc | 336 |
| Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser | |
| 100 105 110 | |
| agc ctc aat ccg gaa acc ggc aag ccg ttc ggc gcc gac ttc ccg gtg | 384 |
| Ser Leu Asn Pro Glu Thr Gly Lys Pro Phe Gly Ala Asp Phe Pro Val | |
| 115 120 125 | |
| ctg acc gtg gaa gac tgg gtg cac agc cag gca cgc ctg gcc gac ctg | 432 |
| Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Leu | |
| 130 135 140 | |
| ctc ggc atc ggc cag tgg gcg gcg gtg atc ggc ggc agc ctg ggc ggc | 480 |
| Leu Gly Ile Gly Gln Trp Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly | |
| 145 150 155 160 | |
| atg cag gcg ctg caa tgg acc atc acc tat ccg gat cgc gtt cgc cac | 528 |
| Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Thr Tyr Pro Asp Arg Val Arg His | |
| 165 170 175 | |
| tgc ctg gcc atc gcc tcg gcc ccc aag ctg tcg gcg cag aac atc gcc | 576 |
| Cys Leu Ala Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala | |
| 180 185 190 | |
| ttc aac gaa gtg gcg cgc cag gcg atc ctc act gac ccg gaa ttc cac | 624 |
| Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Phe His | |
| 195 200 205 | |
| ggc ggc tcg ttc cag gaa cac ggc gtg atc ccc aag cgc ggc ctg atg | 672 |
| Gly Gly Ser Phe Gln Glu His Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met | |
| 210 215 220 | |

ctg gcg cgg atg gtg ggg cac atc acc tac ctg tcc gac gac tcc atg 720
 Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met
 225 230 235 240
 ggt gag aaa ttc ggc cgt ggc ctg aag agc gaa aag ctc aac tac gac 768
 Gly Glu Lys Phe Gly Arg Gly Leu Lys Ser Glu Lys Leu Asn Tyr Asp
 245 250 255
 ttc cac agc gtc gag ttc cag gtc gaa agc tac ctg cgc tat cag ggc 816
 Phe His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly
 260 265 270
 gaa gag ttc tcc ggg cgc ttc gat gcc aac acc tat ctg ttg atg acc 864
 Glu Glu Phe Ser Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr
 275 280 285
 aag gcg ctg gac tac ttc gat ccg gcg gcg aac ttc aac gat aac ctg 912
 Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asn Phe Asn Asp Asn Leu
 290 295 300
 ggc aaa acc ttc gaa ggt gca aaa gcc aag ttc tgc gtg atg tgc ttc 960
 Ala Lys Thr Phe Glu Gly Ala Lys Ala Lys Phe Cys Val Met Ser Phe
 305 310 315 320
 acc acc gac tgg cgc ttc tcc ccg gcc cgc tgc cga gaa ctg gtg gat 1008
 Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Asp
 325 330 335
 gcg ctg atg gcg gcg cgc aaa gac gtc agc tac ctg gaa atc gac gcg 1056
 Ala Leu Met Ala Ala Arg Lys Asp Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala
 340 345 350
 ccc cag ggc cac gac gcc ttc ctg att ccg atc ccg cgc tac ttg cag 1104
 Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln
 355 360 365
 gcg ttc ggc aat tac atg aac cgc att acg ttg tga 1140
 Ala Phe Gly Asn Tyr Met Asn Arg Ile Thr Leu
 370 375

<10> 16
 <11> 379
 <212> PRT
 <213> Pseudomonas fluorescens

<400> 16
 Met Pro Ala Ala Phe Pro Pro Asp Ser Val Gly Leu Val Thr Pro Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala His Phe Ser Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu
 20 25 30
 Ala Asp Tyr Asp Leu Ile Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Gln
 35 40 45
 Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
 50 55 60
 Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
 65 70 75 80
 Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Lys Phe Phe Val

85

90

95

Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser
100 105 110

Ser Leu Asn Pro Glu Thr Gly Lys Pro Phe Gly Ala Asp Phe Pro Val
115 120 125

Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Leu
130 135 140

Leu Gly Ile Gly Gln Trp Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly
145 150 155 160

Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Thr Tyr Pro Asp Arg Val Arg His
165 170 175

Cys Leu Ala Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
180 185 190

he Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Phe His
195 200 205

Gly Gly Ser Phe Gln Glu His Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met
210 215 220

Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met
225 230 235 240

Gly Glu Lys Phe Gly Arg Gly Leu Lys Ser Glu Lys Leu Asn Tyr Asp
245 250 255

Phe His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly
260 265 270

Glu Glu Phe Ser Gly Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr
275 280 285

Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Asn Phe Asn Asp Asn Leu
290 295 300

a Lys Thr Phe Glu Gly Ala Lys Ala Lys Phe Cys Val Met Ser Phe
5 310 315 320

Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Asp
325 330 335

Ala Leu Met Ala Ala Arg Lys Asp Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala
340 345 350

Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln
355 360 365

Ala Phe Gly Asn Tyr Met Asn Arg Ile Thr Leu
370 375

<210> 17

<211> 1140

<212> DNA

<213> Pseudomonas aeruginosa

<220>

M/43127

MetA

<221> CDS
 <222> (1)..(1137)
 <223> RPA04460

<400> 17

| | |
|---|-----|
| atg ccc aca gtc ttc ccc gac gac tcc gtc ggt ctg gtc tcc ccc cag | 48 |
| Met Pro Thr Val Phe Pro Asp Asp Ser Val Gly Leu Val Ser Pro Gln | |
| 1 5 10 15 | |
| acg ctg cac ttc aac gaa ccg ctc gag ctg acc agc ggc aag tcc ctg | 96 |
| Thr Leu His Phe Asn Glu Pro Leu Glu Leu Thr Ser Gly Lys Ser Leu | |
| 20 25 30 | |
| gcc gag tac gac ctg gtg atc gaa acc tac ggc gag ctg aat gcc acg | 144 |
| Ala Glu Tyr Asp Leu Val Ile Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Thr | |
| 35 40 45 | |
| cag agc aac gcg gtg ctg atc tgc cac gcc ctc tcc ggc cac cac cac | 192 |
| Gln Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His | |
| 50 55 60 | |
| ccc gcc ggc tac cac agc gtc gac gag cgc aag ccg ggc tgg tgg gac | 240 |
| Ala Ala Gly Tyr His Ser Val Asp Glu Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| agc tgc atc ggt ccg ggc aag ccg atc gac acc cgc aag ttc ttc gtc | 288 |
| Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Arg Lys Phe Phe Val | |
| 85 90 95 | |
| gtc gcc ctc aac aac ctc ggc ggt tgc aac gga tcc agc ggc ccc gcc | 336 |
| Val Ala Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Ser Gly Pro Ala | |
| 100 105 110 | |
| agc atc aat ccg gcg acc ggc aag gtc tac ggc gcg gac ttc ccg atg | 384 |
| Ser Ile Asn Pro Ala Thr Gly Lys Val Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met | |
| 115 120 125 | |
| gtt acg gtg gaa gac tgg gtg cat agc cag gcg cgc ctg gca gac cgc | 432 |
| Val Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg | |
| 130 135 140 | |
| ccc gcc atc cgc cag tgg gcc gcg gtg gtc ggc ggc agc ctc ggc ggc | 480 |
| Ala Gly Ile Arg Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly | |
| 145 150 155 160 | |
| atg cag gcg ctg caa tgg acc atc agc tat ccc gag cgc gtc cgt cac | 528 |
| Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His | |
| 165 170 175 | |
| tgc ctg tgc atc gcc agc gcg ccg aag ctg tcg gcg cag aac atc gcc | 576 |
| Cys Leu Cys Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala | |
| 180 185 190 | |
| ttc aac gaa gtc gcc ccg cag gcg att ctt tcc gac cct gag ttc ctc | 624 |
| Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Ser Asp Pro Glu Phe Leu | |
| 195 200 205 | |
| ggc ggc tac ttc cag gag cag ggc gtg att ccc aag cgc ggc ctc aag | 672 |
| Gly Gly Tyr Phe Gln Glu Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Lys | |
| 210 215 220 | |
| ctg gcg cgg atg gtc ggc cat atc acc tac ctg tcc gac gac gcc atg | 720 |
| Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ala Met | |

| 225 | 230 | 235 | 240 | |
|---|-----|-----|-----|------|
| ggc gcc aag ttc ggc cgt gta ctg aag acc gag aag ctc aac tac gac | | | | 768 |
| Gly Ala Lys Phe Gly Arg Val Leu Lys Thr Glu Lys Leu Asn Tyr Asp | 245 | 250 | 255 | |
| ctg cac agc gtc gag ttc cag gtc gag agt tac ctg cgc tac cag ggc | | | | 816 |
| Leu His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly | 260 | 265 | 270 | |
| gag gag ttc tcc acc cgc ttc gac gcc aat acc tac ctg ctg atg acc | | | | 864 |
| Glu Glu Phe Ser Thr Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr | 275 | 280 | 285 | |
| aag gcg ctg gac tac ttc gac ccc gcc gcc gcc cac ggc gac gac ctg | | | | 912 |
| Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Ala His Gly Asp Asp Leu | 290 | 295 | 300 | |
| gtg cgc acc ctg gag ggc gtc gag gcg gac ttc tgc ctg atg tcc ttc | | | | 960 |
| Val Arg Thr Leu Glu Gly Val Glu Ala Asp Phe Cys Leu Met Ser Phe | 305 | 310 | 315 | 320 |
| acc acc gac tgg cgt ttc tcg ccg gcc cgc tcg cgg gaa atc gtc gac | | | | 1008 |
| Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Ile Val Asp | 325 | 330 | 335 | |
| gcc ctg atc gcg gcg aaa aag aac gtc agc tac ctg gag atc gac gcc | | | | 1056 |
| Ala Leu Ile Ala Ala Lys Lys Asn Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala | 340 | 345 | 350 | |
| ccg caa ggc cac gac gcc ttc ctc atg ccg atc ccc cgg tac ctg caa | | | | 1104 |
| Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Met Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln | 355 | 360 | 365 | |
| gcc ttc agc ggt tac atg aac cgc atc agc gtg tga | | | | 1140 |
| Ala Phe Ser Gly Tyr Met Asn Arg Ile Ser Val | 370 | 375 | | |

<210> 18

<211> 379

<212> PRT

<213> Pseudomonas aeruginosa

<400> 18

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Pro | Thr | Val | Phe | Pro | Asp | Asp | Ser | Val | Gly | Leu | Val | Ser | Pro | Gln |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Leu | His | Phe | Asn | Glu | Pro | Leu | Glu | Leu | Thr | Ser | Gly | Lys | Ser | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Glu | Tyr | Asp | Leu | Val | Ile | Glu | Thr | Tyr | Gly | Glu | Leu | Asn | Ala | Thr |
| | | | 35 | | | | 40 | | | | | 45 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Ser | Asn | Ala | Val | Leu | Ile | Cys | His | Ala | Leu | Ser | Gly | His | His | His |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Ala | Gly | Tyr | His | Ser | Val | Asp | Glu | Arg | Lys | Pro | Gly | Trp | Trp | Asp |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Cys | Ile | Gly | Pro | Gly | Lys | Pro | Ile | Asp | Thr | Arg | Lys | Phe | Phe | Val |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |

Val Ala Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Ser Gly Pro Ala
 100 105 110
 Ser Ile Asn Pro Ala Thr Gly Lys Val Tyr Gly Ala Asp Phe Pro Met
 115 120 125
 Val Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg
 130 135 140
 Leu Gly Ile Arg Gln Trp Ala Ala Val Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly
 145 150 155 160
 Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Ile Ser Tyr Pro Glu Arg Val Arg His
 165 170 175
 Cys Leu Cys Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
 180 185 190
 Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Ser Asp Pro Glu Phe Leu
 195 200 205
 Gly Gly Tyr Phe Gln Glu Gln Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Lys
 210 215 220
 Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ala Met
 225 230 235 240
 Gly Ala Lys Phe Gly Arg Val Leu Lys Thr Glu Lys Leu Asn Tyr Asp
 245 250 255
 Leu His Ser Val Glu Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly
 260 265 270
 Glu Glu Phe Ser Thr Arg Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Met Thr
 275 280 285
 Lys Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Ala His Gly Asp Asp Leu
 290 295 300
 Val Arg Thr Leu Glu Gly Val Glu Ala Asp Phe Cys Leu Met Ser Phe
 305 310 315 320
 Thr Thr Asp Trp Arg Phe Ser Pro Ala Arg Ser Arg Glu Ile Val Asp
 325 330 335
 Ala Leu Ile Ala Ala Lys Lys Asn Val Ser Tyr Leu Glu Ile Asp Ala
 340 345 350
 Pro Gln Gly His Asp Ala Phe Leu Met Pro Ile Pro Arg Tyr Leu Gln
 355 360 365
 Ala Phe Ser Gly Tyr Met Asn Arg Ile Ser Val
 370 375

<210> 19

<211> 1146

<212> DNA

<213> Burkholderia cepacia

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1143)

<223> RBU12675

<400> 19

| | |
|---|-----|
| atg gaa tcg atc ggt atc gtc gct ccc caa aaa atg cat ttc acc gag | 48 |
| Met Glu Ser Ile Gly Ile Val Ala Pro Gln Lys Met His Phe Thr Glu | |
| 1 5 10 15 | |
| ccg ctg ccg ttg cag aac ggc agt tcg ctc gcc ggt tac gac ctg atg | 96 |
| Pro Leu Pro Leu Gln Asn Gly Ser Ser Leu Ala Gly Tyr Asp Leu Met | |
| 20 25 30 | |
| gtc gag acc tac ggc acg ctc aac gcc gcg cgt agc aac gcg gtg ctg | 144 |
| Val Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ala Arg Ser Asn Ala Val Leu | |
| 35 40 45 | |
| gtg tgc cac gcg ctc aac gcg tcg cac cac gtg gcg ggc gtg tat gcc | 192 |
| Val Cys His Ala Leu Asn Ala Ser His His Val Ala Gly Val Tyr Ala | |
| 50 55 60 | |
| gac aac ccc agg gac atc ggc tgg tgg gac aac atg gtc ggc ccg ggc | 240 |
| asp Asn Pro Arg Asp Ile Gly Trp Trp Asp Asn Met Val Gly Pro Gly | |
| 65 70 75 80 | |
| aag ccg ctc gac act gac aag ttc ttc gtg atc ggc gtg aac aac ctc | 288 |
| Lys Pro Leu Asp Thr Asp Lys Phe Phe Val Ile Gly Val Asn Asn Leu | |
| 85 90 95 | |
| gga tcg tgc ttc ggc tcg act ggg ccg atg agc atc gat ccg tct acc | 336 |
| Gly Ser Cys Phe Gly Ser Thr Gly Pro Met Ser Ile Asp Pro Ser Thr | |
| 100 105 110 | |
| ggc aat ccg tac ggc gcg acg ttt ccc gtc gtg acg gtg gaa gac tgg | 384 |
| Gly Asn Pro Tyr Gly Ala Thr Phe Pro Val Val Thr Val Glu Asp Trp | |
| 115 120 125 | |
| gtc aac gcc cag gcg cgc gtc gcg gat caa ttc ggc atc acg cgc ttt | 432 |
| Val Asn Ala Gln Ala Arg Val Ala Asp Gln Phe Gly Ile Thr Arg Phe | |
| 130 135 140 | |
| gcg gcg gtg atg ggc ggc agc ctc ggc ggc atg cag gcg ctc gcg tgg | 480 |
| Ala Ala Val Met Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala Leu Ala Trp | |
| 145 150 155 160 | |
| agc atg atg tat ccg gag cgc gtc gct cac tgc atc gtg gtc gcg tcc | 528 |
| Ser Met Met Tyr Pro Glu Arg Val Ala His Cys Ile Val Val Ala Ser | |
| 165 170 175 | |
| aca ccc aag ctg tcg gcg cag aac atc gcg ttc aac gag gtt gcg cgc | 576 |
| Thr Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Glu Val Ala Arg | |
| 180 185 190 | |
| tcg gcg atc ctg tcg gac ccg gac ttc cac ggc ggc aac tac tac gcg | 624 |
| Ser Ala Ile Leu Ser Asp Pro Asp Phe His Gly Gly Asn Tyr Tyr Ala | |
| 195 200 205 | |
| cac aac gtt aag ccg aag cgc ggc ctg cgc gtc gcg cgc atg atc ggc | 672 |
| His Asn Val Lys Pro Lys Arg Gly Leu Arg Val Ala Arg Met Ile Gly | |
| 210 215 220 | |
| cac atc acg tat ctg tcg gac gac gac atg gcc gag aaa ttc ggc cgc | 720 |
| His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Asp Met Ala Glu Lys Phe Gly Arg | |
| 225 230 235 240 | |

| | |
|---|------|
| tcg ctg cgg cgc gcg gaa ggc gcg ctg gac gcg tac aac ttc aac ttc | 768 |
| Ser Leu Arg Arg Ala Glu Gly Ala Leu Asp Ala Tyr Asn Phe Asn Phe | |
| 245 250 255 | |
| gac gtg gag ttc gag gtg gag tcg tac ctg cgc tac cag ggc gac aag | 816 |
| Asp Val Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys | |
| 260 265 270 | |
| ttc gcc gac tac ttc gac gcg aat acg tat ctg ctg atc acc cgc gcg | 864 |
| Phe Ala Asp Tyr Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Ile Thr Arg Ala | |
| 275 280 285 | |
| ctc gac tac ttc gat ccg gcc aag gcc ttc gcc ggc gac ctg acg gcc | 912 |
| Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Lys Ala Phe Ala Gly Asp Leu Thr Ala | |
| 290 295 300 | |
| gcg gtc gcg cac acc acg gcg aaa tat ctg atc gcc agc ttc acg acc | 960 |
| Ala Val Ala His Thr Thr Ala Lys Tyr Leu Ile Ala Ser Phe Thr Thr | |
| 305 310 315 320 | |
| ac tgg cgc ttc gcg ccg gcc cgc tcg cgt gaa ctg gtg aag gcg ctg | 1008 |
| sp Trp Arg Phe Ala Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Lys Ala Leu | |
| 325 330 335 | |
| ctc gat cac aag cgc acg gtc acc tac gcg gaa atc gac gcg ccg cac | 1056 |
| Leu Asp His Lys Arg Thr Val Thr Tyr Ala Glu Ile Asp Ala Pro His | |
| 340 345 350 | |
| ggc cac gac gcc ttc ctg ctc gac gac gcg cgc tat cac aac ctg atg | 1104 |
| Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Asp Ala Arg Tyr His Asn Leu Met | |
| 355 360 365 | |
| cgc gct tac tac gaa cgt att gcg aac gag gtg aac gca tga | 1146 |
| Arg Ala Tyr Tyr Glu Arg Ile Ala Asn Glu Val Asn Ala | |
| 370 375 380 | |

<210> 20

<211> 381

<212> PRT

<213> Burkholderia cepacia

<214> 20

| | |
|---|--|
| Met Glu Ser Ile Gly Ile Val Ala Pro Gln Lys Met His Phe Thr Glu | |
| 1 5 10 15 | |
| Pro Leu Pro Leu Gln Asn Gly Ser Ser Leu Ala Gly Tyr Asp Leu Met | |
| 20 25 30 | |
| Val Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ala Arg Ser Asn Ala Val Leu | |
| 35 40 45 | |
| Val Cys His Ala Leu Asn Ala Ser His His Val Ala Gly Val Tyr Ala | |
| 50 55 60 | |
| Asp Asn Pro Arg Asp Ile Gly Trp Trp Asp Asn Met Val Gly Pro Gly | |
| 65 70 75 80 | |
| Lys Pro Leu Asp Thr Asp Lys Phe Phe Val Ile Gly Val Asn Asn Leu | |
| 85 90 95 | |
| Gly Ser Cys Phe Gly Ser Thr Gly Pro Met Ser Ile Asp Pro Ser Thr | |
| 100 105 110 | |

Gly Asn Pro Tyr Gly Ala Thr Phe Pro Val Val Thr Val Glu Asp Trp
 115 120 125

Val Asn Ala Gln Ala Arg Val Ala Asp Gln Phe Gly Ile Thr Arg Phe
 130 135 140

Ala Ala Val Met Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Gln Ala Leu Ala Trp
 145 150 155 160

Ser Met Met Tyr Pro Glu Arg Val Ala His Cys Ile Val Val Ala Ser
 165 170 175

Thr Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala Phe Asn Glu Val Ala Arg
 180 185 190

Ser Ala Ile Leu Ser Asp Pro Asp Phe His Gly Gly Asn Tyr Tyr Ala
 195 200 205

His Asn Val Lys Pro Lys Arg Gly Leu Arg Val Ala Arg Met Ile Gly
 210 215 220

His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Asp Met Ala Glu Lys Phe Gly Arg
 225 230 235 240

Ser Leu Arg Arg Ala Glu Gly Ala Leu Asp Ala Tyr Asn Phe Asn Phe
 245 250 255

Asp Val Glu Phe Glu Val Glu Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Asp Lys
 260 265 270

Phe Ala Asp Tyr Phe Asp Ala Asn Thr Tyr Leu Leu Ile Thr Arg Ala
 275 280 285

Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Lys Ala Phe Ala Gly Asp Leu Thr Ala
 290 295 300

Ala Val Ala His Thr Thr Ala Lys Tyr Leu Ile Ala Ser Phe Thr Thr
 305 310 315 320

Asp Trp Arg Phe Ala Pro Ala Arg Ser Arg Glu Leu Val Lys Ala Leu
 325 330 335

Leu Asp His Lys Arg Thr Val Thr Tyr Ala Glu Ile Asp Ala Pro His
 340 345 350

Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Asp Ala Arg Tyr His Asn Leu Met
 355 360 365

Arg Ala Tyr Tyr Glu Arg Ile Ala Asn Glu Val Asn Ala
 370 375 380

<210> 21

<211> 1134

<212> DNA

<213> Nitrosomonas europaea

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1131)

<223> RNE02005

<400> 21
 atg tcc aca caa gat tct gat tcg atc ggc atc gta tcg gca cga cgc 48
 Met Ser Thr Gln Asp Ser Asp Ser Ile Gly Ile Val Ser Ala Arg Arg
 1 5 10 15

gcc cat ttc gac acc ccg ctc agc ctg aaa agc gga gct gta ctg gac 96
 Ala His Phe Asp Thr Pro Leu Ser Leu Lys Ser Gly Ala Val Leu Asp
 20 25 30

agc tac gag ctc gtc tat gaa acc tat ggg gag ctg aat gca gac cga 144
 Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Glu Leu Asn Ala Asp Arg
 35 40 45

tcc aat gca gtg ctg atc tgc cat gct tta tcc ggc aac cac cat gtt 192
 Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly Asn His His Val
 50 55 60

gcc ggt gtt tat gca gat aac ccc aag aat acc gga tgg tgg aac aac 240
 Ala Gly Val Tyr Ala Asp Asn Pro Lys Asn Thr Gly Trp Trp Asn Asn
 65 70 75 80

atg atc ggt ccg ggc aaa ccg gtc gat acc cga aaa ttc ttt gtc atc 288
 Met Ile Gly Pro Gly Lys Pro Val Asp Thr Arg Lys Phe Phe Val Ile
 85 90 95

ggt atc aat aat ctc ggg ggt tgc cat ggc tcc acc ggg ccc atc agc 336
 Gly Ile Asn Asn Leu Gly Gly Cys His Gly Ser Thr Gly Pro Ile Ser
 100 105 110

atc aac gac aag acc ggt aaa cgc ttc ggc ccg gat ttt ccg ctg gta 384
 Ile Asn Asp Lys Thr Gly Lys Arg Phe Gly Pro Asp Phe Pro Leu Val
 115 120 125

acg aca gct gac tgg gca aaa acc tat gtc cgt ttc gcc gat cag ttc 432
 Thr Thr Ala Asp Trp Ala Lys Thr Tyr Val Arg Phe Ala Asp Gln Phe
 130 135 140

agc atc gac tgt ttt gcc gcc gtc atc ggt ggc agt ctg ggc ggg atg 480
 Ser Ile Asp Cys Phe Ala Ala Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met
 145 150 155 160

gag gcc atg caa ctg gcg ctc gat gca ccg gaa aga gtt cgt cat gcc 528
 Arg Ala Met Gln Leu Ala Leu Asp Ala Pro Glu Arg Val Arg His Ala
 165 170 175

ata gtg gtt gca gca tcg gcc agg ctg aca gca cag aac atc gct ttc 576
 Ile Val Val Ala Ala Ser Ala Arg Leu Thr Ala Gln Asn Ile Ala Phe
 180 185 190

aat gat gtc gcg cgt cag gcg att ctg acc gac cct gat ttt cac gac 624
 Asn Asp Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Asp Phe His Asp
 195 200 205

ggc gac tat tat tcc cat ggc acc cac ccg cgc aga ggt tta cgc ctt 672
 Gly Asp Tyr Tyr Ser His Gly Thr His Pro Arg Arg Gly Leu Arg Leu
 210 215 220

gcc cgc atg ctt ggc cac atc acc tac ctg tcg gac gac tcc atg gcc 720
 Ala Arg Met Leu Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met Ala
 225 230 235 240

agc aaa ttc ggc cgt gag tta cgt aac ggc tcg ctt gct ttc aat tat 768
 Ser Lys Phe Gly Arg Glu Leu Arg Asn Gly Ser Leu Ala Phe Asn Tyr

| 245 | | | | | | | | | | 250 | | | | | 255 | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|--|--|--|
| gat | gtg | gaa | ttc | cag | atc | gaa | tcc | tat | ctg | cac | cat | cag | ggc | gac | aaa | 816 | | | | |
| Asp | Val | Glu | Phe | Gln | Ile | Glu | Ser | Tyr | Leu | His | His | Gln | Gly | Asp | Lys | | | | | |
| 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | | | | | | | | | |
| ttt | gcc | gac | ctg | ttc | gac | gca | aac | act | tat | ctg | ctg | atg | acg | aag | gcg | 864 | | | | |
| Phe | Ala | Asp | Leu | Phe | Asp | Ala | Asn | Thr | Tyr | Leu | Leu | Met | Thr | Lys | Ala | | | | | |
| 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | | | | | | | | |
| ctc | gat | tat | ttc | gat | ccg | gcc | cag | gat | tac | gat | ggc | aac | ctg | agt | gca | 912 | | | | |
| Leu | Asp | Tyr | Phe | Asp | Pro | Ala | Gln | Asp | Tyr | Asp | Gly | Asn | Leu | Ser | Ala | | | | | |
| 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | | | | | | | |
| gcc | ttt | gcc | cgt | gca | caa | gcg | gat | ttt | ctg | gta | ctt | tcc | ttt | act | tcc | 960 | | | | |
| Ala | Phe | Ala | Arg | Ala | Gln | Ala | Asp | Phe | Leu | Val | Leu | Ser | Phe | Thr | Ser | | | | | |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 | | | | | |
| gac | tgg | cgt | ttt | tcc | ccg | gag | cgt | tcg | cgc | gat | atc | gtc | aag | gca | ctg | 1008 | | | | |
| Asp | Trp | Arg | Phe | Ser | Pro | Glu | Arg | Ser | Arg | Asp | Ile | Val | Lys | Ala | Leu | | | | | |
| 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | | | | | | | | | |
| ctc | gac | aac | aaa | ctg | aat | gtc | agt | tat | gcg | gaa | att | ccc | tcc | tcg | tac | 1056 | | | | |
| Leu | Asp | Asn | Lys | Leu | Asn | Val | Ser | Tyr | Ala | Glu | Ile | Pro | Ser | Ser | Tyr | | | | | |
| 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | | | | | | | | |
| gga | cat | gat | tcc | ttt | ctc | atg | cag | gac | gac | tac | tat | cac | cag | ttg | ata | 1104 | | | | |
| Gly | His | Asp | Ser | Phe | Leu | Met | Gln | Asp | Asp | Tyr | Tyr | His | Gln | Leu | Ile | | | | | |
| 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | | | | | | | |
| cgt | gct | tac | atg | aac | aat | atc | gct | ctc | tag | | | | | | | 1134 | | | | |
| Arg | Ala | Tyr | Met | Asn | Asn | Ile | Ala | Leu | | | | | | | | | | | | |
| 370 | | | | | 375 | | | | | | | | | | | | | | | |

<210> 22

<211> 377

<212> PRT

<213> Nitrosomonas europaea

<400> 22

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| t | Ser | Thr | Gln | Asp | Ser | Asp | Ser | Ile | Gly | Ile | Val | Ser | Ala | Arg | Arg |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | His | Phe | Asp | Thr | Pro | Leu | Ser | Leu | Lys | Ser | Gly | Ala | Val | Leu | Asp |
| 20 | | | 25 | | | | | 30 | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Tyr | Glu | Leu | Val | Tyr | Glu | Thr | Tyr | Gly | Glu | Leu | Asn | Ala | Asp | Arg |
| 35 | | | 40 | | | | | 45 | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Asn | Ala | Val | Leu | Ile | Cys | His | Ala | Leu | Ser | Gly | Asn | His | His | Val |
| 50 | | | 55 | | | | | 60 | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Gly | Val | Tyr | Ala | Asp | Asn | Pro | Lys | Asn | Thr | Gly | Trp | Trp | Asn | Asn |
| 65 | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ile | Gly | Pro | Gly | Lys | Pro | Val | Asp | Thr | Arg | Lys | Phe | Phe | Val | Ile |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Ile | Asn | Asn | Leu | Gly | Gly | Cys | His | Gly | Ser | Thr | Gly | Pro | Ile | Ser |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ile | Asn | Asp | Lys | Thr | Gly | Lys | Arg | Phe | Gly | Pro | Asp | Phe | Pro | Leu | Val |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Thr | Ala | Asp | Trp | Ala | Lys | Thr | Tyr | Val | Arg | Phe | Ala | Asp | Gln | Phe |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| Ser | Ile | Asp | Cys | Phe | Ala | Ala | Val | Ile | Gly | Gly | Ser | Leu | Gly | Gly | Met |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Ser | Ala | Met | Gln | Leu | Ala | Leu | Asp | Ala | Pro | Glu | Arg | Val | Arg | His | Ala |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Ile | Val | Val | Ala | Ala | Ser | Ala | Arg | Leu | Thr | Ala | Gln | Asn | Ile | Ala | Phe |
| | | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | |
| Asn | Asp | Val | Ala | Arg | Gln | Ala | Ile | Leu | Thr | Asp | Pro | Asp | Phe | His | Asp |
| | | | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | |
| Gly | Asp | Tyr | Tyr | Ser | His | Gly | Thr | His | Pro | Arg | Arg | Gly | Leu | Arg | Leu |
| | | | | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | |
| Ala | Arg | Met | Leu | Gly | His | Ile | Thr | Tyr | Leu | Ser | Asp | Asp | Ser | Met | Ala |
| | | | | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | 240 |
| Ser | Lys | Phe | Gly | Arg | Glu | Leu | Arg | Asn | Gly | Ser | Leu | Ala | Phe | Asn | Tyr |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Asp | Val | Glu | Phe | Gln | Ile | Glu | Ser | Tyr | Leu | His | His | Gln | Gly | Asp | Lys |
| | | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | |
| Phe | Ala | Asp | Leu | Phe | Asp | Ala | Asn | Thr | Tyr | Leu | Leu | Met | Thr | Lys | Ala |
| | | | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | |
| Leu | Asp | Tyr | Phe | Asp | Pro | Ala | Gln | Asp | Tyr | Asp | Gly | Asn | Leu | Ser | Ala |
| | | | | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | |
| Ala | Phe | Ala | Arg | Ala | Gln | Ala | Asp | Phe | Leu | Val | Leu | Ser | Phe | Thr | Ser |
| | | | | 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | 320 |
| Asp | Trp | Arg | Phe | Ser | Pro | Glu | Arg | Ser | Arg | Asp | Ile | Val | Lys | Ala | Leu |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| u | Asp | Asn | Lys | Leu | Asn | Val | Ser | Tyr | Ala | Glu | Ile | Pro | Ser | Ser | Tyr |
| | | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | |
| Gly | His | Asp | Ser | Phe | Leu | Met | Gln | Asp | Asp | Tyr | Tyr | His | Gln | Leu | Ile |
| | | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | |
| Arg | Ala | Tyr | Met | Asn | Asn | Ile | Ala | Leu | | | | | | | |
| | | | | 370 | | | | 375 | | | | | | | |

<210> 23
 <211> 1077
 <212> DNA
 <213> Haemophilus influenzae

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1074)
 <223> RH102681

<400> 23
 atg tct gtg caa aat gta gtg ctt ttt gac aca cag cct tta act ctg 48

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ser | Val | Gln | Asn | Val | Val | Leu | Phe | Asp | Thr | Gln | Pro | Leu | Thr | Leu | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | | |
| atg | ctt | ggc | ggc | aaa | ctt | tcc | cat | att | aat | gtc | gcg | tat | caa | act | tat | 96 |
| Met | Leu | Gly | Gly | Lys | Leu | Ser | His | Ile | Asn | Val | Ala | Tyr | Gln | Thr | Tyr | |
| | | 20 | | | | | | 25 | | | | | 30 | | | |
| ggc | acg | ctc | aat | gcc | gaa | aaa | aat | aat | gcg | gta | tta | att | tgc | cac | gct | 144 |
| Gly | Thr | Leu | Asn | Ala | Glu | Lys | Asn | Asn | Ala | Val | Leu | Ile | Cys | His | Ala | |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | |
| ttg | act | ggg | gat | gct | gag | cct | tat | ttc | gat | gat | ggg | cga | gat | ggc | tgg | 192 |
| Leu | Thr | Gly | Asp | Ala | Glu | Pro | Tyr | Phe | Asp | Asp | Gly | Arg | Asp | Gly | Trp | |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | | |
| tgg | cag | aat | ttt | atg | gga | gca | ggg | tta | gca | ttg | gat | acg | gat | cgt | tat | 240 |
| Trp | Gln | Asn | Phe | Met | Gly | Ala | Gly | Leu | Ala | Leu | Asp | Thr | Asp | Arg | Tyr | |
| 65 | | | | | 70 | | | | 75 | | | | | | 80 | |
| ttt | ttt | att | agc | tcg | aac | gta | tta | ggg | ggg | tgc | aag | gga | aca | act | ggg | 288 |
| Phe | Phe | Ile | Ser | Ser | Asn | Val | Leu | Gly | Gly | Cys | Lys | Gly | Thr | Thr | Gly | |
| | | | | 85 | | | | 90 | | | | | | 95 | | |
| cct | tca | tca | att | aat | ccg | caa | acg | ggg | aaa | cct | tat | ggc | agc | caa | ttt | 336 |
| Pro | Ser | Ser | Ile | Asn | Pro | Gln | Thr | Gly | Lys | Pro | Tyr | Gly | Ser | Gln | Phe | |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | |
| cct | aat | att | gtt | gtg | caa | gat | att | gtt | aaa | gta | caa | aaa | gcc | ttg | ctt | 384 |
| Pro | Asn | Ile | Val | Val | Gln | Asp | Ile | Val | Lys | Val | Gln | Lys | Ala | Leu | Leu | |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| gat | cat | ctt | ggg | att | agc | cat | tta | aaa | gcc | att | att | ggg | gga | tct | ttt | 432 |
| Asp | His | Leu | Gly | Ile | Ser | His | Leu | Lys | Ala | Ile | Ile | Gly | Gly | Ser | Phe | |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | | |
| ggc | ggc | atg | caa | gcg | aat | caa | tgg | gcg | att | gat | tat | cct | gat | ttt | atg | 480 |
| Gly | Gly | Met | Gln | Ala | Asn | Gln | Trp | Ala | Ile | Asp | Tyr | Pro | Asp | Phe | Met | |
| 145 | | | | | 150 | | | | 155 | | | | | | 160 | |
| gat | aat | atc | gtg | aat | ctt | tgc | tca | tcc | att | tat | ttt | agt | gct | gaa | gcc | 528 |
| Asp | Asn | Ile | Val | Asn | Leu | Cys | Ser | Ser | Ile | Tyr | Phe | Ser | Ala | Glu | Ala | |
| | | | | 165 | | | | 170 | | | | | | 175 | | |
| ata | ggg | ttt | aat | cac | gta | atg | cgt | caa | gcg | gtc | att | aat | gat | ccc | aat | 576 |
| Ile | Gly | Phe | Asn | His | Val | Met | Arg | Gln | Ala | Val | Ile | Asn | Asp | Pro | Asn | |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | | |
| ttt | aac | ggc | ggc | gat | tat | tat | gag | ggg | aca | ccg | cca | gat | caa | ggg | tta | 624 |
| Phe | Asn | Gly | Gly | Asp | Tyr | Tyr | Glu | Gly | Thr | Pro | Pro | Asp | Gln | Gly | Leu | |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | | |
| tct | att | gca | cgt | atg | cta | ggg | atg | ctg | act | tac | cgc | acc | gat | tta | caa | 672 |
| Ser | Ile | Ala | Arg | Met | Leu | Gly | Met | Leu | Thr | Tyr | Arg | Thr | Asp | Leu | Gln | |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | | |
| ctt | gcg | aaa | gcc | ttt | ggg | cgt | gcc | aca | aaa | tca | gat | ggc | agc | ttt | tgg | 720 |
| Leu | Ala | Lys | Ala | Phe | Gly | Arg | Ala | Thr | Lys | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Trp | |
| 225 | | | | | 230 | | | | 235 | | | | | | 240 | |
| ggc | gat | tac | ttt | caa | gtg | gaa | tcc | tat | ctt | tct | tac | caa | ggc | aaa | aaa | 768 |
| Gly | Asp | Tyr | Phe | Gln | Val | Glu | Ser | Tyr | Leu | Ser | Tyr | Gln | Gly | Lys | Lys | |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | | |

ttc tta gaa cgt ttt gat gcc aat agt tat ttg cat ttg tta cgt gcg 816
 Phe Leu Glu Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu His Leu Leu Arg Ala
 260 265 270
 ttg gat atg tat gat cca agt ttg ggg tat gac aat gtt aaa gag gca 864
 Leu Asp Met Tyr Asp Pro Ser Leu Gly Tyr Asp Asn Val Lys Glu Ala
 275 280 285
 tta tca cgt att aaa gca cgc tat acg ttg gtt tct gtg aca acg gat 912
 Leu Ser Arg Ile Lys Ala Arg Tyr Thr Leu Val Ser Val Thr Thr Asp
 290 295 300
 caa ctt ttt aaa ccc att gat ctt tat aaa agt aaa cag ctt tta gag 960
 Gln Leu Phe Lys Pro Ile Asp Leu Tyr Lys Ser Lys Gln Leu Leu Glu
 305 310 315 320
 caa agt gga gtc gat cta cat ttt tat gaa ttc cca tca gat tac gga 1008
 Gln Ser Gly Val Asp Leu His Phe Tyr Glu Phe Pro Ser Asp Tyr Gly
 325 330 335
 ac gat gcg ttt tta gtg gat tat gat cag ttt gaa aaa cga att cga 1056
 As Asp Ala Phe Leu Val Asp Tyr Asp Gln Phe Glu Lys Arg Ile Arg
 340 345 350
 gat ggt ttg gca ggt aat taa 1077
 Asp Gly Leu Ala Gly Asn
 355

<210> 24
 <211> 358
 <212> PRT
 <213> Haemophilus influenzae

<400> 24
 Met Ser Val Gln Asn Val Val Leu Phe Asp Thr Gln Pro Leu Thr Leu
 1 5 10 15

Met Leu Gly Gly Lys Leu Ser His Ile Asn Val Ala Tyr Gln Thr Tyr
 20 25 30

y Thr Leu Asn Ala Glu Lys Asn Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala
 35 40 45

Leu Thr Gly Asp Ala Glu Pro Tyr Phe Asp Asp Gly Arg Asp Gly Trp
 50 55 60

Trp Gln Asn Phe Met Gly Ala Gly Leu Ala Leu Asp Thr Asp Arg Tyr
 65 70 75 80

Phe Phe Ile Ser Ser Asn Val Leu Gly Gly Cys Lys Gly Thr Thr Gly
 85 90 95

Pro Ser Ser Ile Asn Pro Gln Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ser Gln Phe
 100 105 110

Pro Asn Ile Val Val Gln Asp Ile Val Lys Val Gln Lys Ala Leu Leu
 115 120 125

Asp His Leu Gly Ile Ser His Leu Lys Ala Ile Ile Gly Gly Ser Phe
 130 135 140

Gly Gly Met Gln Ala Asn Gln Trp Ala Ile Asp Tyr Pro Asp Phe Met

| | | | |
|---|---------------------|---------------------|---------|
| 145 | 150 | 155 | 160 |
| Asp Asn Ile Val | Asn Leu Cys Ser Ser | Ile Tyr Phe Ser Ala | Glu Ala |
| | 165 | 170 | 175 |
| Ile Gly Phe Asn His Val Met Arg Gln Ala Val Ile Asn Asp Pro Asn | | | |
| | 180 | 185 | 190 |
| Phe Asn Gly Gly Asp Tyr Tyr Glu Gly Thr Pro Pro Asp Gln Gly Leu | | | |
| | 195 | 200 | 205 |
| Ser Ile Ala Arg Met Leu Gly Met Leu Thr Tyr Arg Thr Asp Leu Gln | | | |
| | 210 | 215 | 220 |
| Leu Ala Lys Ala Phe Gly Arg Ala Thr Lys Ser Asp Gly Ser Phe Trp | | | |
| | 225 | 230 | 235 |
| Gly Asp Tyr Phe Gln Val Glu Ser Tyr Leu Ser Tyr Gln Gly Lys Lys | | | |
| | 245 | 250 | 255 |
| Phe Leu Glu Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr Leu His Leu Leu Arg Ala | | | |
| | 260 | 265 | 270 |
| Leu Asp Met Tyr Asp Pro Ser Leu Gly Tyr Asp Asn Val Lys Glu Ala | | | |
| | 275 | 280 | 285 |
| Leu Ser Arg Ile Lys Ala Arg Tyr Thr Leu Val Ser Val Thr Thr Asp | | | |
| | 290 | 295 | 300 |
| Gln Leu Phe Lys Pro Ile Asp Leu Tyr Lys Ser Lys Gln Leu Leu Glu | | | |
| | 305 | 310 | 315 |
| Gln Ser Gly Val Asp Leu His Phe Tyr Glu Phe Pro Ser Asp Tyr Gly | | | |
| | 325 | 330 | 335 |
| His Asp Ala Phe Leu Val Asp Tyr Asp Gln Phe Glu Lys Arg Ile Arg | | | |
| | 340 | 345 | 350 |
| Asp Gly Leu Ala Gly Asn | | | |
| | 355 | | |

<10> 25
 <211> 1296
 <212> DNA
 <213> Halobacterium sp

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1293)
 <223> ETX_HALN1

| | |
|---|-----|
| <400> 25 | |
| atg ggc cac gat cac gga ctc cac acc aac agt gta cac gcc ggc cag | 48 |
| Met Gly His Asp His Gly Leu His Thr Asn Ser Val His Ala Gly Gln | |
| 1 5 10 15 | |
| cgc gtc gac ccg gcc acg ggc gct cgc gcg ccg cca ctc tac cag acc | 96 |
| Arg Val Asp Pro Ala Thr Gly Ala Arg Ala Pro Pro Leu Tyr Gln Thr | |
| 20 25 30 | |
| acg tcg tac gcc ttc gag gac agc gcc gat gcc gcc ggc cag ttc gcc | 144 |
| Thr Ser Tyr Ala Phe Glu Asp Ser Ala Asp Ala Ala Gly Gln Phe Ala | |

| 35 | 40 | 45 | |
|---|----|----|-----|
| ctt gag cgg gac ggc tac atc tac tcg cgg ctg atg aac ccc acc gtg Leu Glu Arg Asp Gly Tyr Ile Tyr Ser Arg Leu Met Asn Pro Thr Val 50 55 60 | | | 192 |
| gag acc ctc cag gac cgc ctc gcc gcc ctc gaa ggc ggc gtc ggc gcg Glu Thr Leu Gln Asp Arg Leu Ala Ala Leu Glu Gly Gly Val Gly Ala 65 70 75 80 | | | 240 |
| gtc gcc acc gcg tcc gga atg gcc gcc ctg gac ctc gcg acg ttc ctg Val Ala Thr Ala Ser Gly Met Ala Ala Leu Asp Leu Ala Thr Phe Leu 85 90 95 | | | 288 |
| ctg gca cgc gcc ggc gac tcc gtc gtc gcc gcc agc gac ctc tac ggc Leu Ala Arg Ala Gly Asp Ser Val Val Ala Ala Ser Asp Leu Tyr Gly 100 105 110 | | | 336 |
| ggc acc gtg acg tac ctc acg cac agc gcc cag cgc cgc ggc gtc gac Gly Thr Val Thr Tyr Leu Thr His Ser Ala Gln Arg Arg Gly Val Asp 115 120 125 | | | 384 |
| acg acg ttc gtg gac gtc ctc gac tac gac gcc tac gcc gac gcc atc Thr Thr Phe Val Asp Val Leu Asp Tyr Asp Ala Tyr Ala Asp Ala Ile 130 135 140 | | | 432 |
| gac gcc gac acc gcc tac gtg ctc gtc gaa acc gtc ggc aac ccc agc Asp Ala Asp Thr Ala Tyr Val Leu Val Glu Thr Val Gly Asn Pro Ser 145 150 155 160 | | | 480 |
| ctg atc acg ccc gac ctc gaa cgc atc gcc gac atc gcc cac gac aac Leu Ile Thr Pro Asp Leu Glu Arg Ile Ala Asp Ile Ala His Asp Asn 165 170 175 | | | 528 |
| ggc gtt ccc ctg ctg gtg gac aac acg ttc gcg acc ccc gcg ctg gca Gly Val Pro Leu Leu Val Asp Asn Thr Phe Ala Thr Pro Ala Leu Ala 180 185 190 | | | 576 |
| acc ccg atc gac cac ggt gcc gac atc gtc tgg cac tcc acc acc aaa Thr Pro Ile Asp His Gly Ala Asp Ile Val Trp His Ser Thr Thr Lys 195 200 205 | | | 624 |
| g atc cac ggt gcc ggc acc acc gtc ggc ggc gcg ctc gtc gac gcc Trp Ile His Gly Ala Gly Thr Thr Val Gly Gly Ala Leu Val Asp Ala 210 215 220 | | | 672 |
| ggc agc ttc gac tgg gac gcc cac gcc gcc gac tac ccc gag atc gcc Gly Ser Phe Asp Trp Asp Ala His Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Ile Ala 225 230 235 240 | | | 720 |
| cag gaa aac ccc gcc tac cac ggc gtg acc ttc acc gat cgc ttc ggg Gln Glu Asn Pro Ala Tyr His Gly Val Thr Phe Thr Asp Arg Phe Gly 245 250 255 | | | 768 |
| gac gcc gcg ttc acg tac gcc gca atc gcc cgc ggg ctg cgc gat ctg Asp Ala Ala Phe Thr Tyr Ala Ala Ile Ala Arg Gly Leu Arg Asp Leu 260 265 270 | | | 816 |
| ggc aac cag cag tcg ccg ttc gac gcc tgg cag acc ctc cag aag ctc Gly Asn Gln Gln Ser Pro Phe Asp Ala Trp Gln Thr Leu Gln Lys Leu 275 280 285 | | | 864 |
| gaa acg ctc ccg ctg cgc atg caa caa cac tgc cgg aac gcc cag ctc | | | 912 |

| | |
|---|------|
| Glu Thr Leu Pro Leu Arg Met Gln Gln His Cys Arg Asn Ala Gln Leu | |
| 290 295 300 | |
| gtc gcc gaa cac ctc cgg gac cac ccc aac gtg tcg tgg gtc aac tac | 960 |
| Val Ala Glu His Leu Arg Asp His Pro Asn Val Ser Trp Val Asn Tyr | |
| 305 310 315 320 | |
| ccc ggg ctg gcc gac cac gac acc cac gac aac gca acc acc tac ctc | 1008 |
| Pro Gly Leu Ala Asp His Asp Thr His Asp Asn Ala Thr Thr Tyr Leu | |
| 325 330 335 | |
| gat tcg ggc tac gga ggc atg ctc acg ttc ggc gtc gag gac ggc tac | 1056 |
| Asp Ser Gly Tyr Gly Gly Met Leu Thr Phe Gly Val Glu Asp Gly Tyr | |
| 340 345 350 | |
| gag gcc gcc caa tcg gtc acc gag gag acc acg ctt gcc agc ctg ctg | 1104 |
| Glu Ala Ala Gln Ser Val Thr Glu Glu Thr Thr Leu Ala Ser Leu Leu | |
| 355 360 365 | |
| gcg aac gtc ggc gac gcc aaa acg ctc gtg atc cac ccc gcc tcc acc | 1152 |
| la Asn Val Gly Asp Ala Lys Thr Leu Val Ile His Pro Ala Ser Thr | |
| 370 375 380 | |
| acc cac cag cag ctc acc ccc gaa gcc cag cgc gcc ggc ggt gtg cgc | 1200 |
| Thr His Gln Gln Leu Thr Pro Glu Ala Gln Arg Ala Gly Gly Val Arg | |
| 385 390 395 400 | |
| ccc gag atg gtg cgg gtg tcg gtc ggc atc gag gac ccc gcc gac atc | 1248 |
| Pro Glu Met Val Arg Val Ser Val Gly Ile Glu Asp Pro Ala Asp Ile | |
| 405 410 415 | |
| gtc gcg gac ctc gaa acc gcc atc gag gcc gcg gtc ggg tcg gcg | 1293 |
| Val Ala Asp Leu Glu Thr Ala Ile Glu Ala Ala Val Gly Ser Ala | |
| 420 425 430 | |
| tag | 1296 |

<210> 26

<211> 431

<212> PRT

<13> Halobacterium sp

<400> 26

| | |
|---|--|
| Met Gly His Asp His Gly Leu His Thr Asn Ser Val His Ala Gly Gln | |
| 1 5 10 15 | |
| Arg Val Asp Pro Ala Thr Gly Ala Arg Ala Pro Pro Leu Tyr Gln Thr | |
| 20 25 30 | |
| Thr Ser Tyr Ala Phe Glu Asp Ser Ala Asp Ala Ala Gly Gln Phe Ala | |
| 35 40 45 | |
| Leu Glu Arg Asp Gly Tyr Ile Tyr Ser Arg Leu Met Asn Pro Thr Val | |
| 50 55 60 | |
| Glu Thr Leu Gln Asp Arg Leu Ala Ala Leu Glu Gly Gly Val Gly Ala | |
| 65 70 75 80 | |
| Val Ala Thr Ala Ser Gly Met Ala Ala Leu Asp Leu Ala Thr Phe Leu | |
| 85 90 95 | |
| Leu Ala Arg Ala Gly Asp Ser Val Val Ala Ala Ser Asp Leu Tyr Gly | |

M/43127

MetA

| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Thr | Val | Thr | Tyr | Leu | Thr | His | Ser | Ala | Gln | Arg | Arg | Gly | Val | Asp |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Thr | Thr | Phe | Val | Asp | Val | Leu | Asp | Tyr | Asp | Ala | Tyr | Ala | Asp | Ala | Ile |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Asp | Ala | Asp | Thr | Ala | Tyr | Val | Leu | Val | Glu | Thr | Val | Gly | Asn | Pro | Ser |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| Leu | Ile | Thr | Pro | Asp | Leu | Glu | Arg | Ile | Ala | Asp | Ile | Ala | His | Asp | Asn |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Gly | Val | Pro | Leu | Leu | Val | Asp | Asn | Thr | Phe | Ala | Thr | Pro | Ala | Leu | Ala |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Thr | Pro | Ile | Asp | His | Gly | Ala | Asp | Ile | Val | Trp | His | Ser | Thr | Thr | Lys |
| | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Trp | Ile | His | Gly | Ala | Gly | Thr | Thr | Val | Gly | Gly | Ala | Leu | Val | Asp | Ala |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Gly | Ser | Phe | Asp | Trp | Asp | Ala | His | Ala | Ala | Asp | Tyr | Pro | Glu | Ile | Ala |
| 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| Gln | Glu | Asn | Pro | Ala | Tyr | His | Gly | Val | Thr | Phe | Thr | Asp | Arg | Phe | Gly |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| Asp | Ala | Ala | Phe | Thr | Tyr | Ala | Ala | Ile | Ala | Arg | Gly | Leu | Arg | Asp | Leu |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Gly | Asn | Gln | Gln | Ser | Pro | Phe | Asp | Ala | Trp | Gln | Thr | Leu | Gln | Lys | Leu |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Glu | Thr | Leu | Pro | Leu | Arg | Met | Gln | Gln | His | Cys | Arg | Asn | Ala | Gln | Leu |
| | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Val | Ala | Glu | His | Leu | Arg | Asp | His | Pro | Asn | Val | Ser | Trp | Val | Asn | Tyr |
| 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| Pro | Gly | Leu | Ala | Asp | His | Asp | Thr | His | Asp | Asn | Ala | Thr | Thr | Tyr | Leu |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Asp | Ser | Gly | Tyr | Gly | Gly | Met | Leu | Thr | Phe | Gly | Val | Glu | Asp | Gly | Tyr |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Glu | Ala | Ala | Gln | Ser | Val | Thr | Glu | Glu | Thr | Thr | Leu | Ala | Ser | Leu | Leu |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Ala | Asn | Val | Gly | Asp | Ala | Lys | Thr | Leu | Val | Ile | His | Pro | Ala | Ser | Thr |
| | | 370 | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| Thr | His | Gln | Gln | Leu | Thr | Pro | Glu | Ala | Gln | Arg | Ala | Gly | Gly | Val | Arg |
| 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| Pro | Glu | Met | Val | Arg | Val | Ser | Val | Gly | Ile | Glu | Asp | Pro | Ala | Asp | Ile |
| | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| Val | Ala | Asp | Leu | Glu | Thr | Ala | Ile | Glu | Ala | Ala | Val | Gly | Ser | Ala | |
| | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |

<210> 27
 <211> 1143
 <212> DNA
 <213> Thermus thermophilus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1140)
 <223> RTT00268

<400> 27

| | |
|---|-----|
| atg agc gag atc gcc ctc gag gcc tgg ggg gag cac gag gcc ctc ctc | 48 |
| Met Ser Glu Ile Ala Leu Glu Ala Trp Gly Glu His Glu Ala Leu Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| ctc aag ccc ccc cgc tcc ccc ctc tcc atc ccc ccg ccc aag ccc cgc | 96 |
| Leu Lys Pro Pro Arg Ser Pro Leu Ser Ile Pro Pro Pro Lys Pro Arg | |
| 20 25 30 | |
| acc gcc gtc ctc ttc ccc agg cgg gag ggg ttc tac acg gag ctc ggg | 144 |
| Thr Ala Val Leu Phe Pro Arg Arg Glu Gly Phe Tyr Thr Glu Leu Gly | |
| 35 40 45 | |
| ggg tac ctc ccc gag gtg cgc ctc cgc ttt gag acc tac ggg acc ctc | 192 |
| Gly Tyr Leu Pro Glu Val Arg Leu Arg Phe Glu Thr Tyr Gly Thr Leu | |
| 50 55 60 | |
| tcc cgc agg cgg gat aac gcc gtc ctc gtc ttc cac gcc ctc acg ggg | 240 |
| Ser Arg Arg Arg Asp Asn Ala Val Leu Val Phe His Ala Leu Thr Gly | |
| 65 70 75 80 | |
| agc gcc cac ctg gcg ggg acc tac gac gag gaa acc ttt aga agc ctc | 288 |
| Ser Ala His Leu Ala Gly Thr Tyr Asp Glu Glu Thr Phe Arg Ser Leu | |
| 85 90 95 | |
| tcc ccc ctg gag cag gcc ttc ggc cgg gaa ggg tgg tgg gac agc ctg | 336 |
| Ser Pro Leu Glu Gln Ala Phe Gly Arg Glu Gly Trp Trp Asp Ser Leu | |
| 100 105 110 | |
| gtg ggg ccc ggg cgg atc ctg gac ccc gcc ctc tac tac gtg gtc tcc | 384 |
| Val Gly Pro Gly Arg Ile Leu Asp Pro Ala Leu Tyr Tyr Val Val Ser | |
| 115 120 125 | |
| gcc aac cac ctg gga agc tgc tac ggc tcc acc ggc ccc ctc tcc cta | 432 |
| Ala Asn His Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro Leu Ser Leu | |
| 130 135 140 | |
| gac ccc cac acg ggc cgc ccc tac ggg agg gac ttc cct ccc ctt acc | 480 |
| Asp Pro His Thr Gly Arg Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Pro Pro Leu Thr | |
| 145 150 155 160 | |
| atc cgc gac ctg gcc cgg gcc cag gcg agg ctt ctg gac cat ctg ggg | 528 |
| Ile Arg Asp Leu Ala Arg Ala Gln Ala Arg Leu Leu Asp His Leu Gly | |
| 165 170 175 | |
| gtg gag aag gcc atc gtc atc ggg ggg agc ctc ggg ggg atg gtg gcc | 576 |
| Val Glu Lys Ala Ile Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Val Ala | |
| 180 185 190 | |
| ctg gag ttc gcc ctc atg tac ccg gag agg gtg aag aag ctc gtg gtc | 624 |
| Leu Glu Phe Ala Leu Met Tyr Pro Glu Arg Val Lys Lys Leu Val Val | |
| 195 200 205 | |

| | |
|---|------|
| ctg gcg gcc ccc gca cgg cac ggc ccc tgg gcc cgg gcc ttc aac cac | 672 |
| Leu Ala Ala Pro Ala Arg His Gly Pro Trp Ala Arg Ala Phe Asn His | |
| 210 215 220 | |
| ctc tcc cgc cag gcc atc ctc caa gac ccc gag tac cag aag ggc aac | 720 |
| Leu Ser Arg Gln Ala Ile Leu Gln Asp Pro Glu Tyr Gln Lys Gly Asn | |
| 225 230 235 240 | |
| cct gcc ccc aag ggc atg gcc ctc gcc cgg gga atc gcc atg atg agc | 768 |
| Pro Ala Pro Lys Gly Met Ala Leu Ala Arg Gly Ile Ala Met Met Ser | |
| 245 250 255 | |
| tac cgg gcc ccc gag ggg ttt gag gcc cgc tgg ggc gcg gag ccc gag | 816 |
| Tyr Arg Ala Pro Glu Gly Phe Glu Ala Arg Trp Gly Ala Glu Pro Glu | |
| 260 265 270 | |
| ctc ggg gaa atc cac ctg gac tac cag ggg gag aag ttc ctc cgg cgc | 864 |
| Leu Gly Glu Ile His Leu Asp Tyr Gln Gly Glu Lys Phe Leu Arg Arg | |
| 275 280 285 | |
| ctc cac gcc gag agc tac ctc gtc ctc tcc cgg gcc atg gac aac cac | 912 |
| Phe His Ala Glu Ser Tyr Leu Val Leu Ser Arg Ala Met Asp Asn His | |
| 290 295 300 | |
| gac gtg ggc cgg ggc cgg ggc ggg gtg gag gag gcc ctg aag cgc ctc | 960 |
| Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Val Glu Glu Ala Leu Lys Arg Leu | |
| 305 310 315 320 | |
| agg gcc atc ccc tcc ctc ttc gtg ggc att gac acc gac ctc ctc tac | 1008 |
| Arg Ala Ile Pro Ser Leu Phe Val Gly Ile Asp Thr Asp Leu Leu Tyr | |
| 325 330 335 | |
| ccc gcc tgg gag gtg agg cag gcg gcc aag gcg gcg ggg gcc cgc tac | 1056 |
| Pro Ala Trp Glu Val Arg Gln Ala Ala Lys Ala Ala Gly Ala Arg Tyr | |
| 340 345 350 | |
| cgg gag atc aaa agc ccc cac ggg cac gac gcc ttc ctc ata gag acc | 1104 |
| Arg Glu Ile Lys Ser Pro His Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Glu Thr | |
| 355 360 365 | |
| gac cag gtg gag gag atc ctg gac gcc ttc ctc ccg tag | 1143 |
| Asp Gln Val Glu Glu Ile Leu Asp Ala Phe Leu Pro | |
| 370 375 380 | |

<210> 28

<211> 380

<212> PRT

<213> Thermus thermophilus

<400> 28

| | |
|---|--|
| Met Ser Glu Ile Ala Leu Glu Ala Trp Gly Glu His Glu Ala Leu Leu | |
| 1 5 10 15 | |
| Leu Lys Pro Pro Arg Ser Pro Leu Ser Ile Pro Pro Pro Lys Pro Arg | |
| 20 25 30 | |
| Thr Ala Val Leu Phe Pro Arg Arg Glu Gly Phe Tyr Thr Glu Leu Gly | |
| 35 40 45 | |
| Gly Tyr Leu Pro Glu Val Arg Leu Arg Phe Glu Thr Tyr Gly Thr Leu | |
| 50 55 60 | |

Ser Arg Arg Arg Asp Asn Ala Val Leu Val Phe His Ala Leu Thr Gly
 65 70 75 80
 Ser Ala His Leu Ala Gly Thr Tyr Asp Glu Glu Thr Phe Arg Ser Leu
 85 90 95
 Ser Pro Leu Glu Gln Ala Phe Gly Arg Glu Gly Trp Trp Asp Ser Leu
 100 105 110
 Val Gly Pro Gly Arg Ile Leu Asp Pro Ala Leu Tyr Tyr Val Val Ser
 115 120 125
 Ala Asn His Leu Gly Ser Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro Leu Ser Leu
 130 135 140
 Asp Pro His Thr Gly Arg Pro Tyr Gly Arg Asp Phe Pro Pro Leu Thr
 145 150 155 160
 Ile Arg Asp Leu Ala Arg Ala Gln Ala Arg Leu Leu Asp His Leu Gly
 165 170 175
 Val Glu Lys Ala Ile Val Ile Gly Gly Ser Leu Gly Gly Met Val Ala
 180 185 190
 Leu Glu Phe Ala Leu Met Tyr Pro Glu Arg Val Lys Lys Leu Val Val
 195 200 205
 Leu Ala Ala Pro Ala Arg His Gly Pro Trp Ala Arg Ala Phe Asn His
 210 215 220
 Leu Ser Arg Gln Ala Ile Leu Gln Asp Pro Glu Tyr Gln Lys Gly Asn
 225 230 235 240
 Pro Ala Pro Lys Gly Met Ala Leu Ala Arg Gly Ile Ala Met Met Ser
 245 250 255
 Tyr Arg Ala Pro Glu Gly Phe Glu Ala Arg Trp Gly Ala Glu Pro Glu
 260 265 270
 Leu Gly Glu Ile His Leu Asp Tyr Gln Gly Glu Lys Phe Leu Arg Arg
 275 280 285
 Leu His Ala Glu Ser Tyr Leu Val Leu Ser Arg Ala Met Asp Asn His
 290 295 300
 Asp Val Gly Arg Gly Arg Gly Gly Val Glu Glu Ala Leu Lys Arg Leu
 305 310 315 320
 Arg Ala Ile Pro Ser Leu Phe Val Gly Ile Asp Thr Asp Leu Leu Tyr
 325 330 335
 Pro Ala Trp Glu Val Arg Gln Ala Ala Lys Ala Ala Gly Ala Arg Tyr
 340 345 350
 Arg Glu Ile Lys Ser Pro His Gly His Asp Ala Phe Leu Ile Glu Thr
 355 360 365
 Asp Gln Val Glu Glu Ile Leu Asp Ala Phe Leu Pro
 370 375 380

<210> 29

<211> 1005

<212> DNA

<213> *Deinococcus radiodurans*

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (1002)

<223> RDR01287

<400> 29

| | |
|---|-----|
| gtg acc gcc gtg ctc gcg ggc cac gcc tct gcc ctg ctg ctg acc gaa | 48 |
| Val Thr Ala Val Leu Ala Gly His Ala Ser Ala Leu Leu Leu Thr Glu | |
| 1 5 10 15 | |
| gaa ccc gac tgt tgc ggg ccg cag acg gtc gtt ctc ttc cgg cgt gag | 96 |
| Glu Pro Asp Cys Ser Gly Pro Gln Thr Val Val Leu Phe Arg Arg Glu | |
| 20 25 30 | |
| ccg ctg ctg ctc gac tgc gga cgg gcg ctg agc gac gtg cgg gtg gcc | 144 |
| Pro Leu Leu Leu Asp Cys Gly Arg Ala Leu Ser Asp Val Arg Val Ala | |
| 35 40 45 | |
| ttt cac acc tac ggc acg ccg cgc gcc gac gcc acg ctg gtg ctg cac | 192 |
| Phe His Thr Tyr Gly Thr Pro Arg Ala Asp Ala Thr Leu Val Leu His | |
| 50 55 60 | |
| gcc ctg acc ggc gac agc gcg gtg cac gag tgg tgg ccc gac ttt ctg | 240 |
| Ala Leu Thr Gly Asp Ser Ala Val His Glu Trp Trp Pro Asp Phe Leu | |
| 65 70 75 80 | |
| ggc gcg ggc cgg cca ctg gac ccg gca gac gac tac gtg gtg tgc gcc | 288 |
| Gly Ala Gly Arg Pro Leu Asp Pro Ala Asp Asp Tyr Val Val Cys Ala | |
| 85 90 95 | |
| aac gtc ctc ggc ggg tgc gcc ggc acg acg agc gcc gct gaa ctc gcc | 336 |
| Asn Val Leu Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Ser Ala Ala Glu Leu Ala | |
| 100 105 110 | |
| gcc acc tgt tcc gga ccg gtg ccg ctc agc ctg cgc gac atg gcc cgg | 384 |
| Ala Thr Cys Ser Gly Pro Val Pro Leu Ser Leu Arg Asp Met Ala Arg | |
| 115 120 125 | |
| ctg ggg cgc gcc ctg ctg gat tct ctc ggc gtg cga cgg gtg cgg gtc | 432 |
| Ala Gly Arg Ala Leu Leu Asp Ser Leu Gly Val Arg Arg Val Arg Val | |
| 130 135 140 | |
| atc ggc gcg agc atg ggc ggg atg ctc gcc tac gcc tgg ctg ctg gag | 480 |
| Ile Gly Ala Ser Met Gly Gly Met Leu Ala Tyr Ala Trp Leu Leu Glu | |
| 145 150 155 160 | |
| tgc ccc gac ctg gtg gaa aag gcc gtg att ata gga gcc ccg gcg cgg | 528 |
| Cys Pro Asp Leu Val Glu Lys Ala Val Ile Ile Gly Ala Pro Ala Arg | |
| 165 170 175 | |
| cac tgc ccc tgg gct att gga ctg aac acg gcg gcc cgc agc gcc att | 576 |
| His Ser Pro Trp Ala Ile Gly Leu Asn Thr Ala Ala Arg Ser Ala Ile | |
| 180 185 190 | |
| gcc ctc gct ccc ggc ggc gag ggg ctg aag gtg gcg cgc cag att gcc | 624 |
| Ala Leu Ala Pro Gly Gly Glu Gly Leu Lys Val Ala Arg Gln Ile Ala | |
| 195 200 205 | |
| atg ctc agt tac cgc agc ccc gaa agc cta agc cgc acg cag gcg ggg | 672 |
| Met Leu Ser Tyr Arg Ser Pro Glu Ser Leu Ser Arg Thr Gln Ala Gly | |

| 210 | 215 | 220 | |
|---|-----|-----|------|
| cag cgc gtg ccg ggg gtg ccc gcc gtt acg tct tac ctg cac tac caa | | | 720 |
| Gln Arg Val Pro Gly Val Pro Ala Val Thr Ser Tyr Leu His Tyr Gln | | | |
| 225 | 230 | 235 | 240 |
| ggc gaa aaa ctc gcc gcc cgc ttc gac gag cag acc tac tgc gcc ctc | | | 768 |
| Gly Glu Lys Leu Ala Ala Arg Phe Asp Glu Gln Thr Tyr Cys Ala Leu | | | |
| | 245 | 250 | 255 |
| acc tgg gcg atg gac gcc ttt cag ccg agc agc gcc gac ctc aaa gcg | | | 816 |
| Thr Trp Ala Met Asp Ala Phe Gln Pro Ser Ser Ala Asp Leu Lys Ala | | | |
| | 260 | 265 | 270 |
| gtg cgc gcg ccg gta ctc gtc gtc ggc atc tcc agc gat ctg ctc tac | | | 864 |
| Val Arg Ala Pro Val Leu Val Val Gly Ile Ser Ser Asp Leu Leu Tyr | | | |
| | 275 | 280 | 285 |
| ccc gcc gcc gag gtc cgc gcc tgc gcc gcc gag ctt ccc cac gcc gac | | | 912 |
| Pro Ala Ala Glu Val Arg Ala Cys Ala Ala Glu Leu Pro His Ala Asp | | | |
| | 290 | 295 | 300 |
| tac tgg gaa ctg ggc agc att cac ggc cac gac gcc ttt ttg atg gac | | | 960 |
| Tyr Trp Glu Leu Gly Ser Ile His Gly His Asp Ala Phe Leu Met Asp | | | |
| | 305 | 310 | 315 |
| cca cag gac ttg ccg gag cgg gtg ggg gcg ttt ctc agg agt | | | 1002 |
| Pro Gln Asp Leu Pro Glu Arg Val Gly Ala Phe Leu Arg Ser | | | |
| | 325 | 330 | |
| tga | | | 1005 |
| | | | |
| <210> 30 | | | |
| <211> 334 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Deinococcus radiodurans | | | |
| | | | |
| <400> 30 | | | |
| Val Thr Ala Val Leu Ala Gly His Ala Ser Ala Leu Leu Leu Thr Glu | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Leu Pro Asp Cys Ser Gly Pro Gln Thr Val Val Leu Phe Arg Arg Glu | | | |
| | 20 | 25 | 30 |
| Pro Leu Leu Leu Asp Cys Gly Arg Ala Leu Ser Asp Val Arg Val Ala | | | |
| | 35 | 40 | 45 |
| Phe His Thr Tyr Gly Thr Pro Arg Ala Asp Ala Thr Leu Val Leu His | | | |
| | 50 | 55 | 60 |
| Ala Leu Thr Gly Asp Ser Ala Val His Glu Trp Trp Pro Asp Phe Leu | | | |
| | 65 | 70 | 75 |
| Gly Ala Gly Arg Pro Leu Asp Pro Ala Asp Asp Tyr Val Val Cys Ala | | | |
| | 85 | 90 | 95 |
| Asn Val Leu Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Ser Ala Ala Glu Leu Ala | | | |
| | 100 | 105 | 110 |
| Ala Thr Cys Ser Gly Pro Val Pro Leu Ser Leu Arg Asp Met Ala Arg | | | |
| | 115 | 120 | 125 |

Val Gly Arg Ala Leu Leu Asp Ser Leu Gly Val Arg Arg Val Arg Val
130 135 140

Ile Gly Ala Ser Met Gly Gly Met Leu Ala Tyr Ala Trp Leu Leu Glu
145 150 155 160

Cys Pro Asp Leu Val Glu Lys Ala Val Ile Ile Gly Ala Pro Ala Arg
165 170 175

His Ser Pro Trp Ala Ile Gly Leu Asn Thr Ala Ala Arg Ser Ala Ile
180 185 190

Ala Leu Ala Pro Gly Gly Glu Gly Leu Lys Val Ala Arg Gln Ile Ala
195 200 205

Met Leu Ser Tyr Arg Ser Pro Glu Ser Leu Ser Arg Thr Gln Ala Gly
210 215 220

Gln Arg Val Pro Gly Val Pro Ala Val Thr Ser Tyr Leu His Tyr Gln
225 230 235 240

Gly Glu Lys Leu Ala Ala Arg Phe Asp Glu Gln Thr Tyr Cys Ala Leu
245 250 255

Thr Trp Ala Met Asp Ala Phe Gln Pro Ser Ser Ala Asp Leu Lys Ala
260 265 270

Val Arg Ala Pro Val Leu Val Val Gly Ile Ser Ser Asp Leu Leu Tyr
275 280 285

Pro Ala Ala Glu Val Arg Ala Cys Ala Ala Glu Leu Pro His Ala Asp
290 295 300

Tyr Trp Glu Leu Gly Ser Ile His Gly His Asp Ala Phe Leu Met Asp
305 310 315 320

Pro Gln Asp Leu Pro Glu Arg Val Gly Ala Phe Leu Arg Ser
325 330

<210> 31

<211> 1461

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1458)

<223> RSC08123

<400> 31

atg tcg cat act tta aaa tcg aaa acg ctc caa gag ctg gac att gag 48
Met Ser His Thr Leu Lys Ser Lys Thr Leu Gln Glu Leu Asp Ile Glu
1 5 10 15

gag att aag gaa act aac cca ttg ctc aaa cta gtt caa ggg cag agg 96
Glu Ile Lys Glu Thr Asn Pro Leu Leu Lys Leu Val Gln Gly Gln Arg
20 25 30

att gtt caa gtt ccg gaa cta gtg ctt gag tct ggc gtg gtc ata aat 144
Ile Val Gln Val Pro Glu Leu Val Leu Glu Ser Gly Val Val Ile Asn
35 40 45

| | |
|---|-----|
| aat ttc cct att gct tat aag acg tgg ggt aca ctg aat gaa gct ggt | 192 |
| Asn Phe Pro Ile Ala Tyr Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Glu Ala Gly | |
| 50 55 60 | |
| gat aat gtt ctg gta att tgt cat gcc ttg act ggg tcc gca gat gtt | 240 |
| Asp Asn Val Leu Val Ile Cys His Ala Leu Thr Gly Ser Ala Asp Val | |
| 65 70 75 80 | |
| gct gac tgg tgg ggc cct ctt ctg ggt aac gac tta gca ttc gac cca | 288 |
| Ala Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Asn Asp Leu Ala Phe Asp Pro | |
| 85 90 95 | |
| tca agg ttt ttt atc ata tgt tta aac tct atg ggc tct cca tat ggg | 336 |
| Ser Arg Phe Phe Ile Ile Cys Leu Asn Ser Met Gly Ser Pro Tyr Gly | |
| 100 105 110 | |
| tct ttt tcg cca tta acg ata aat gag gag acg ggc gtt aga tat gga | 384 |
| Ser Phe Ser Pro Leu Thr Ile Asn Glu Glu Thr Gly Val Arg Tyr Gly | |
| 115 120 125 | |
| acc gaa ttc cca tta tgt act gtg cgc gat gac gtt aga gct cac aga | 432 |
| Pro Glu Phe Pro Leu Cys Thr Val Arg Asp Asp Val Arg Ala His Arg | |
| 130 135 140 | |
| att gtt ctg gat tct ctg gga gta aag tca ata gcc tgt gtt att ggt | 480 |
| Ile Val Leu Asp Ser Leu Gly Val Lys Ser Ile Ala Cys Val Ile Gly | |
| 145 150 155 160 | |
| ggc tct atg ggg ggg atg ctg agt ttg gaa tgg gct gcc atg tat ggt | 528 |
| Gly Ser Met Gly Gly Met Leu Ser Leu Glu Trp Ala Ala Met Tyr Gly | |
| 165 170 175 | |
| aag gaa tat gtg aag aat atg gtt gct ctg gcg aca tca gca aga cat | 576 |
| Lys Glu Tyr Val Lys Asn Met Val Ala Leu Ala Thr Ser Ala Arg His | |
| 180 185 190 | |
| tct gcc tgg tgc ata tcg tgg tct gag gct caa aga caa tcg att tac | 624 |
| Ser Ala Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr | |
| 195 200 205 | |
| tca gat ccc aac tac ttg gac ggg tac tat ccg gta gag gag caa cct | 672 |
| Ser Asp Pro Asn Tyr Leu Asp Gly Tyr Tyr Pro Val Glu Glu Gln Pro | |
| 210 215 220 | |
| gtg gcc gga cta tcg gct gca cgt atg tct gca ttg ttg acg tac agg | 720 |
| Val Ala Gly Leu Ser Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg | |
| 225 230 235 240 | |
| aca aga aac agt ttc gag aac aaa ttc tcc aga aga tct cct tca ata | 768 |
| Thr Arg Asn Ser Phe Glu Asn Lys Phe Ser Arg Arg Ser Pro Ser Ile | |
| 245 250 255 | |
| gca caa caa caa aaa gct caa agg gag gag aca cgc aaa cca tct act | 816 |
| Ala Gln Gln Gln Lys Ala Gln Arg Glu Glu Thr Arg Lys Pro Ser Thr | |
| 260 265 270 | |
| gtc agc gaa cac tcc cta caa atc cac aat gat ggg tat aaa aca aaa | 864 |
| Val Ser Glu His Ser Leu Gln Ile His Asn Asp Gly Tyr Lys Thr Lys | |
| 275 280 285 | |
| gcc agc act gcc atc gct ggc att tct ggg caa aaa ggt caa agc gtg | 912 |
| Ala Ser Thr Ala Ile Ala Gly Ile Ser Gly Gln Lys Gly Gln Ser Val | |
| 290 295 300 | |

gtg tcc acc gca tct tct tcg gat tca ttg aat tct tca aca tcg atg 960
 Val Ser Thr Ala Ser Ser Ser Asp Ser Leu Asn Ser Ser Thr Ser Met
 305 310 315 320
 act tcg gta agt tct gta acg ggt gaa gtg aag gac ata aag cct gcg 1008
 Thr Ser Val Ser Ser Val Thr Gly Glu Val Lys Asp Ile Lys Pro Ala
 325 330 335
 cag acg tat ttt tct gca caa agt tac ttg agg tac cag ggc aca aag 1056
 Gln Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Gly Thr Lys
 340 345 350
 ttc atc aat agg ttc gac gcc aat tgt tac att gcc atc aca cgt aaa 1104
 Phe Ile Asn Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ala Ile Thr Arg Lys
 355 360 365
 ctg gat acg cac gat ttg gca aga gac aga gta gat gac atc act gag 1152
 Leu Asp Thr His Asp Leu Ala Arg Asp Arg Val Asp Asp Ile Thr Glu
 370 375 380
 ttc ctt tct acc atc caa caa cca tcc ctg atc atc ggt atc caa tct 1200
 Val Leu Ser Thr Ile Gln Gln Pro Ser Leu Ile Ile Gly Ile Gln Ser
 385 390 395 400
 gat gga ctg ttc aca tat tca gaa caa gaa ttt ttg gct gag cac ata 1248
 Asp Gly Leu Phe Thr Tyr Ser Glu Gln Glu Phe Leu Ala Glu His Ile
 405 410 415
 ccg aag tcg caa tta gaa aaa att gaa tct ccc gaa ggc cac gat gcc 1296
 Pro Lys Ser Gln Leu Glu Lys Ile Glu Ser Pro Glu Gly His Asp Ala
 420 425 430
 ttc cta ttg gag ttt aag ctg ata aac aaa ctg ata gta caa ttt tta 1344
 Phe Leu Leu Glu Phe Lys Leu Ile Asn Lys Leu Ile Val Gln Phe Leu
 435 440 445
 aaa acc aac tgc aag gcc att acc gat gcc gct cca aga gct tgg gga 1392
 Lys Thr Asn Cys Lys Ala Ile Thr Asp Ala Ala Pro Arg Ala Trp Gly
 450 455 460
 ttc gac gtt ggt aac gat gaa acg aag acg tct gtc ttt ggt gag gcc 1440
 Val Asp Val Gly Asn Asp Glu Thr Lys Thr Ser Val Phe Gly Glu Ala
 465 470 475 480
 gaa gaa gtt acc aac tgg tag 1461
 Glu Glu Val Thr Asn Trp
 485

<210> 32

<211> 486

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 32

Met Ser His Thr Leu Lys Ser Lys Thr Leu Gln Glu Leu Asp Ile Glu
 1 5 10 15

Glu Ile Lys Glu Thr Asn Pro Leu Leu Lys Leu Val Gln Gly Gln Arg
 20 25 30

Ile Val Gln Val Pro Glu Leu Val Leu Glu Ser Gly Val Val Ile Asn

| 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Phe | Pro | Ile | Ala | Tyr | Lys | Thr | Trp | Gly | Thr | Leu | Asn | Glu | Ala | Gly |
| 50 | | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Asp | Asn | Val | Leu | Val | Ile | Cys | His | Ala | Leu | Thr | Gly | Ser | Ala | Asp | Val |
| 65 | | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | 80 |
| Ala | Asp | Trp | Trp | Gly | Pro | Leu | Leu | Gly | Asn | Asp | Leu | Ala | Phe | Asp | Pro |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Ser | Arg | Phe | Phe | Ile | Ile | Cys | Leu | Asn | Ser | Met | Gly | Ser | Pro | Tyr | Gly |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Ser | Phe | Ser | Pro | Leu | Thr | Ile | Asn | Glu | Glu | Thr | Gly | Val | Arg | Tyr | Gly |
| | | | 115 | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Pro | Glu | Phe | Pro | Leu | Cys | Thr | Val | Arg | Asp | Asp | Val | Arg | Ala | His | Arg |
| | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Ile | Val | Leu | Asp | Ser | Leu | Gly | Val | Lys | Ser | Ile | Ala | Cys | Val | Ile | Gly |
| 45 | | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | 160 |
| Gly | Ser | Met | Gly | Gly | Met | Leu | Ser | Leu | Glu | Trp | Ala | Ala | Met | Tyr | Gly |
| | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| Lys | Glu | Tyr | Val | Lys | Asn | Met | Val | Ala | Leu | Ala | Thr | Ser | Ala | Arg | His |
| | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| Ser | Ala | Trp | Cys | Ile | Ser | Trp | Ser | Glu | Ala | Gln | Arg | Gln | Ser | Ile | Tyr |
| | | | 195 | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| Ser | Asp | Pro | Asn | Tyr | Leu | Asp | Gly | Tyr | Tyr | Pro | Val | Glu | Glu | Gln | Pro |
| | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| Val | Ala | Gly | Leu | Ser | Ala | Ala | Arg | Met | Ser | Ala | Leu | Leu | Thr | Tyr | Arg |
| 225 | | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | 240 |
| Thr | Arg | Asn | Ser | Phe | Glu | Asn | Lys | Phe | Ser | Arg | Arg | Ser | Pro | Ser | Ile |
| | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| a | Gln | Gln | Gln | Lys | Ala | Gln | Arg | Glu | Glu | Thr | Arg | Lys | Pro | Ser | Thr |
| | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| Val | Ser | Glu | His | Ser | Leu | Gln | Ile | His | Asn | Asp | Gly | Tyr | Lys | Thr | Lys |
| | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| Ala | Ser | Thr | Ala | Ile | Ala | Gly | Ile | Ser | Gly | Gln | Lys | Gly | Gln | Ser | Val |
| | | 290 | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| Val | Ser | Thr | Ala | Ser | Ser | Ser | Asp | Ser | Leu | Asn | Ser | Ser | Thr | Ser | Met |
| 305 | | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | 320 |
| Thr | Ser | Val | Ser | Ser | Val | Thr | Gly | Glu | Val | Lys | Asp | Ile | Lys | Pro | Ala |
| | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| Gln | Thr | Tyr | Phe | Ser | Ala | Gln | Ser | Tyr | Leu | Arg | Tyr | Gln | Gly | Thr | Lys |
| | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| Phe | Ile | Asn | Arg | Phe | Asp | Ala | Asn | Cys | Tyr | Ile | Ala | Ile | Thr | Arg | Lys |
| | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| Leu | Asp | Thr | His | Asp | Leu | Ala | Arg | Asp | Arg | Val | Asp | Asp | Ile | Thr | Glu |

| | | |
|---|-----|-------------|
| 370 | 375 | 380 |
| Val Leu Ser Thr Ile Gln Gln Pro Ser Leu Ile Ile Gly Ile Gln Ser | | |
| 385 | 390 | 395 400 |
| Asp Gly Leu Phe Thr Tyr Ser Glu Gln Glu Phe Leu Ala Glu His Ile | | |
| | 405 | 410 415 |
| Pro Lys Ser Gln Leu Glu Lys Ile Glu Ser Pro Glu Gly His Asp Ala | | |
| | 420 | 425 430 |
| Phe Leu Leu Glu Phe Lys Leu Ile Asn Lys Leu Ile Val Gln Phe Leu | | |
| | 435 | 440 445 |
| Lys Thr Asn Cys Lys Ala Ile Thr Asp Ala Ala Pro Arg Ala Trp Gly | | |
| | 450 | 455 460 |
| Gly Asp Val Gly Asn Asp Glu Thr Lys Thr Ser Val Phe Gly Glu Ala | | |
| | 465 | 470 475 480 |
| Glu Glu Val Thr Asn Trp | | |
| | 485 | |

<210> 33
 <211> 1470
 <212> DNA
 <213> Schizosaccharomyces pombe

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1467)
 <223> RSO01936

| | |
|---|-----|
| <400> 33 | |
| atg gaa tct caa tct ccg att gaa tca att gtc ttt act gac tcc tgt | 48 |
| Met Glu Ser Gln Ser Pro Ile Glu Ser Ile Val Phe Thr Asp Ser Cys | |
| 1 5 10 15 | |
| cat ccg tct cag caa gaa aat aaa ttt gtt cag ctt att tca gat caa | 96 |
| His Pro Ser Gln Gln Glu Asn Lys Phe Val Gln Leu Ile Ser Asp Gln | |
| 20 25 30 | |
| aaa att gca att gtt ccc aaa ttt acg ttg gag tgt ggc gac atc ctt | 144 |
| Lys Ile Ala Ile Val Pro Lys Phe Thr Leu Glu Cys Gly Asp Ile Leu | |
| 35 40 45 | |
| tac gat gtt ccc gtt gcc ttc aag act tgg ggt act ttg aat aaa gaa | 192 |
| Tyr Asp Val Pro Val Ala Phe Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Lys Glu | |
| 50 55 60 | |
| gga aac aat tgt ctt ctt ctt tgt cat gct tta agt ggt tct gct gat | 240 |
| Gly Asn Asn Cys Leu Leu Leu Cys His Ala Leu Ser Gly Ser Ala Asp | |
| 65 70 75 80 | |
| gct gga gat tgg tgg ggt cct tta ctc ggt cct ggt cgt gcg ttt gat | 288 |
| Ala Gly Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Pro Gly Arg Ala Phe Asp | |
| 85 90 95 | |
| cca tca cat ttc ttt atc gta tgc ctt aat tct ctt ggt agc cca tac | 336 |
| Pro Ser His Phe Phe Ile Val Cys Leu Asn Ser Leu Gly Ser Pro Tyr | |
| 100 105 110 | |

| | |
|---|------|
| gga agc gcc tct cct gtt aca tgg aac gct gag act cat agt gtt tat | 384 |
| Gly Ser Ala Ser Pro Val Thr Trp Asn Ala Glu Thr His Ser Val Tyr | |
| 115 120 125 | |
| ggg cca gaa ttt cct tta gca acc ata cgt gat gat gta aac atc cat | 432 |
| Gly Pro Glu Phe Pro Leu Ala Thr Ile Arg Asp Asp Val Asn Ile His | |
| 130 135 140 | |
| aaa ctt att tta caa aga ttg ggt gta aag caa att gct atg gca gta | 480 |
| Lys Leu Ile Leu Gln Arg Leu Gly Val Lys Gln Ile Ala Met Ala Val | |
| 145 150 155 160 | |
| ggt ggc tcc atg ggt ggt atg ctg gtt ttg gag tgg gca ttt gat aag | 528 |
| Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Leu Val Leu Glu Trp Ala Phe Asp Lys | |
| 165 170 175 | |
| gaa ttt gtg cga tca att gtt ccc att tct acc tct ctt cgt cat tcc | 576 |
| Glu Phe Val Arg Ser Ile Val Pro Ile Ser Thr Ser Leu Arg His Ser | |
| 180 185 190 | |
| tcg tgg tgc att agc tgg tct gaa gcg caa cgc cag agt ata tat tct | 624 |
| Ile Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr Ser | |
| 195 200 205 | |
| gac cct aag ttt aat gat gga tac tac ggc ata gac gat cag cct gta | 672 |
| Asp Pro Lys Phe Asn Asp Gly Tyr Tyr Gly Ile Asp Asp Gln Pro Val | |
| 210 215 220 | |
| agt ggc ctt gga gct gct cgt atg tct gcc ttg ttg aca tat cgc tcc | 720 |
| Ser Gly Leu Gly Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg Ser | |
| 225 230 235 240 | |
| aaa tgt tct ttc gaa cgt cgc ttt gcc cgt act gtt cct gat gcg tct | 768 |
| Lys Cys Ser Phe Glu Arg Arg Phe Ala Arg Thr Val Pro Asp Ala Ser | |
| 245 250 255 | |
| cgt cac ccc tat cca gat cgt tta ccc act cct ctc acg ccc agt aat | 816 |
| Arg His Pro Tyr Pro Asp Arg Leu Pro Thr Pro Leu Thr Pro Ser Asn | |
| 260 265 270 | |
| gca cat tgg gtc gtt cac aac gaa gga aac cgt aat cgc cgt gaa cga | 864 |
| Ile His Trp Val Val His Asn Glu Gly Asn Arg Asn Arg Arg Glu Arg | |
| 275 280 285 | |
| cct tgt cga tcc aat gga tca tca cct act tct gaa agt gct tta aat | 912 |
| Pro Cys Arg Ser Asn Gly Ser Ser Pro Thr Ser Glu Ser Ala Leu Asn | |
| 290 295 300 | |
| tcc ccc gcc tct tct gtc tcg tct tta cct tct tta ggt gcc tct cag | 960 |
| Ser Pro Ala Ser Ser Val Ser Ser Leu Pro Ser Leu Gly Ala Ser Gln | |
| 305 310 315 320 | |
| act aca gac agt tct tcc ctt aac cag agt tcg tta tta aga cgt cct | 1008 |
| Thr Thr Asp Ser Ser Ser Leu Asn Gln Ser Ser Leu Leu Arg Arg Pro | |
| 325 330 335 | |
| gct aat act tac ttc tct gcg caa tcg tat tta cgt tac caa gcg aag | 1056 |
| Ala Asn Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Ala Lys | |
| 340 345 350 | |
| aag ttt gta agt cgc ttt gat gct aat tgt tac att tcg att act aaa | 1104 |
| Lys Phe Val Ser Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ser Ile Thr Lys | |
| 355 360 365 | |

aag ttg gac acc cat gat att act cgt gga cgc ggt tca gac tct cct 1152
 Lys Leu Asp Thr His Asp Ile Thr Arg Gly Arg Gly Ser Asp Ser Pro
 370 375 380

aag gaa gtc atg aag gat ttg tct tta ccc gta ctc gta ctc ggt att 1200
 Lys Glu Val Met Lys Asp Leu Ser Leu Pro Val Leu Val Leu Gly Ile
 385 390 395 400

gaa agc gat ggt ctt ttc aca ttt gac gaa caa gtt gaa att gcc aaa 1248
 Glu Ser Asp Gly Leu Phe Thr Phe Asp Glu Gln Val Glu Ile Ala Lys
 405 410 415

tct ttt ccc aat gct acc ttg gaa aaa att att tcg gcc gaa ggc cac 1296
 Ser Phe Pro Asn Ala Thr Leu Glu Lys Ile Ile Ser Ala Glu Gly His
 420 425 430

gac ggt ttt ttg ctt gag ttt act caa gta aac tca cat att caa aaa 1344
 Asp Gly Phe Leu Leu Glu Phe Thr Gln Val Asn Ser His Ile Gln Lys
 435 440 445

tc caa aag gaa cat tta att gat atc atg tct caa act aat tcc ttt 1392
 Phe Gln Lys Glu His Leu Ile Asp Ile Met Ser Gln Thr Asn Ser Phe
 450 455 460

gag cga ctt gat tcc caa gtt aat gat acc aac cgc gaa agc gtt ttt 1440
 Glu Arg Leu Asp Ser Gln Val Asn Asp Thr Asn Arg Glu Ser Val Phe
 465 470 475 480

gga gaa atg gaa gac ata acc tcc tgg taa 1470
 Gly Glu Met Glu Asp Ile Thr Ser Trp
 485

<210> 34

<211> 489

<212> PRT

<213> Schizosaccharomyces pombe

<400> 34

Met Glu Ser Gln Ser Pro Ile Glu Ser Ile Val Phe Thr Asp Ser Cys
 1 5 10 15

His Pro Ser Gln Gln Glu Asn Lys Phe Val Gln Leu Ile Ser Asp Gln
 20 25 30

Lys Ile Ala Ile Val Pro Lys Phe Thr Leu Glu Cys Gly Asp Ile Leu
 35 40 45

Tyr Asp Val Pro Val Ala Phe Lys Thr Trp Gly Thr Leu Asn Lys Glu
 50 55 60

Gly Asn Asn Cys Leu Leu Leu Cys His Ala Leu Ser Gly Ser Ala Asp
 65 70 75 80

Ala Gly Asp Trp Trp Gly Pro Leu Leu Gly Pro Gly Arg Ala Phe Asp
 85 90 95

Pro Ser His Phe Phe Ile Val Cys Leu Asn Ser Leu Gly Ser Pro Tyr
 100 105 110

Gly Ser Ala Ser Pro Val Thr Trp Asn Ala Glu Thr His Ser Val Tyr
 115 120 125

Gly Pro Glu Phe Pro Leu Ala Thr Ile Arg Asp Asp Val Asn Ile His
 130 135 140
 Lys Leu Ile Leu Gln Arg Leu Gly Val Lys Gln Ile Ala Met Ala Val
 145 150 155 160
 Gly Gly Ser Met Gly Gly Met Leu Val Leu Glu Trp Ala Phe Asp Lys
 165 170 175
 Glu Phe Val Arg Ser Ile Val Pro Ile Ser Thr Ser Leu Arg His Ser
 180 185 190
 Ala Trp Cys Ile Ser Trp Ser Glu Ala Gln Arg Gln Ser Ile Tyr Ser
 195 200 205
 Asp Pro Lys Phe Asn Asp Gly Tyr Tyr Gly Ile Asp Asp Gln Pro Val
 210 215 220
 Ser Gly Leu Gly Ala Ala Arg Met Ser Ala Leu Leu Thr Tyr Arg Ser
 225 230 235 240
 Lys Cys Ser Phe Glu Arg Arg Phe Ala Arg Thr Val Pro Asp Ala Ser
 245 250 255
 Arg His Pro Tyr Pro Asp Arg Leu Pro Thr Pro Leu Thr Pro Ser Asn
 260 265 270
 Ala His Trp Val Val His Asn Glu Gly Asn Arg Asn Arg Arg Glu Arg
 275 280 285
 Pro Cys Arg Ser Asn Gly Ser Ser Pro Thr Ser Glu Ser Ala Leu Asn
 290 295 300
 Ser Pro Ala Ser Ser Val Ser Ser Leu Pro Ser Leu Gly Ala Ser Gln
 305 310 315 320
 Thr Thr Asp Ser Ser Ser Leu Asn Gln Ser Ser Leu Leu Arg Arg Pro
 325 330 335
 Ala Asn Thr Tyr Phe Ser Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Tyr Gln Ala Lys
 340 345 350
 Lys Phe Val Ser Arg Phe Asp Ala Asn Cys Tyr Ile Ser Ile Thr Lys
 355 360 365
 Lys Leu Asp Thr His Asp Ile Thr Arg Gly Arg Gly Ser Asp Ser Pro
 370 375 380
 Lys Glu Val Met Lys Asp Leu Ser Leu Pro Val Leu Val Leu Gly Ile
 385 390 395 400
 Glu Ser Asp Gly Leu Phe Thr Phe Asp Glu Gln Val Glu Ile Ala Lys
 405 410 415
 Ser Phe Pro Asn Ala Thr Leu Glu Lys Ile Ile Ser Ala Glu Gly His
 420 425 430
 Asp Gly Phe Leu Leu Glu Phe Thr Gln Val Asn Ser His Ile Gln Lys
 435 440 445
 Phe Gln Lys Glu His Leu Ile Asp Ile Met Ser Gln Thr Asn Ser Phe
 450 455 460

Glu Arg Leu Asp Ser Gln Val Asn Asp Thr Asn Arg Glu Ser Val Phe
 465 470 475 480

Gly Glu Met Glu Asp Ile Thr Ser Trp
 485

<210> 35
 <211> 1113
 <212> DNA
 <213> Xylella almond

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1110)
 <223> RXFX01562

<400> 35
 atg acc gaa ttt atc cct ccg ggc agc cta ttc cat gcg ctc tcc tct 48
 Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser
 1 5 10 15
 cca ttt gcg atg aag cgt ggc gga caa ctc cac cac gcc cgc atc gct 96
 Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala
 20 25 30
 tac gaa aca tgg ggc cgc ctc aat gcc agc gcc acc aat gcc att ctg 144
 Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
 35 40 45
 atc atg cct ggc tta tca ccc aat gca cat gcc gca cac cat gac agc 192
 Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
 50 55 60
 aat gct gag cca ggc tgg tgg gag tca atg cta ggt cca ggc aaa ccc 240
 Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
 65 70 75 80
 atc gac aca gac cgt tgg ttc gtg atc tgt gtc aac tca ctt ggt agc 288
 Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
 85 90 95
 tgc aaa gga tcg act ggc cct gca tcg tac aac ccc atc acg cag gcc 336
 Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
 100 105 110
 atg tat cgt ttg gac ttt cca gca ctg tca atc gaa gac ggg gcc aac 384
 Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
 115 120 125
 tcc gca att gaa gtg gta cat gca ctg ggc atc aag caa ctt gcc agc 432
 Ser Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
 130 135 140
 ctg atc ggc aat tca atg ggc ggc atg acg gca ctg gcc atc ctg ctg 480
 Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Ala Leu Ala Ile Leu Leu
 145 150 155 160
 tta cat cca gat ata gcc cgc agc cac atc aac atc tca ggc agc gcg 528
 Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
 165 170 175

cag gca tta ccg ttt tcc atc gcc att cgc tcg cta caa cgc gag gcg 576
 Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala
 180 185 190

atc cgc ctg gac ccc cat tgg agg cag gga gac tac gac gac acc cac 624
 Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Arg Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
 195 200 205

tac ccg gaa tcg ggg cta cgc atc gca cgc aaa ctt ggg gtg atc acc 672
 Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
 210 215 220

tac cgc tcc gcg ctg gaa tgg gac ggg cgt ttt ggc cgg gta cgc ttg 720
 Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
 225 230 235 240

gat tcg gac caa acc aac gac aca cca ttc gga ctg gaa ttc caa att 768
 Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
 245 250 255

aa aac tac ttg gaa agc cat gca cac cgc ttc gtg cac acc ttc gac 816
 lu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
 260 265 270

cca aac tgc tac ctg tac ctg agc cgc tcc atg gac tgg ttc gac gtg 864
 Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
 275 280 285

gcc gag tac gcc aat gga gac att ctt gcc ggg ctg gcc agg atc cga 912
 Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
 290 295 300

atc caa cgc gca ctc gcc atc ggt agc cat acc gac atc ctc ttt cca 960
 Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
 305 310 315 320

ata caa cag caa caa caa att gcc gaa ggg cta cgc cgt ggc ggt aca 1008
 Ile Gln Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Gly Thr
 325 330 335

sac gcc acc ttc ctg ggc ctt gac tca ccg cag ggg cat gat gcg ttc 1056
 s Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
 340 345 350

ctt gtg gat atc gca aga ttt ggc cct cca gtg aag gaa ttt ctg gac 1104
 Leu Val Asp Ile Ala Arg Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Asp
 355 360 365

gaa ctg tga 1113
 Glu Leu
 370

<210> 36

<211> 370

<212> PRT

<213> Xylella almond

<400> 36

Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser
 1 5 10 15

Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala

20

25

30

Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
 35 40 45
 Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
 50 55 60
 Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
 65 70 75 80
 Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
 85 90 95
 Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
 100 105 110
 Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
 115 120 125
 Ser Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
 130 135 140
 Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Ala Leu Ala Ile Leu Leu
 145 150 155 160
 Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
 165 170 175
 Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala
 180 185 190
 Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Arg Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
 195 200 205
 Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
 210 215 220
 Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
 225 230 235 240
 Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
 245 250 255
 Glu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
 260 265 270
 Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
 275 280 285
 Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
 290 295 300
 Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
 305 310 315 320
 Ile Gln Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Gly Thr
 325 330 335
 His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
 340 345 350
 Leu Val Asp Ile Ala Arg Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Asp

355

360

365

Glu Leu
370

<210> 37
<211> 1113
<212> DNA
<213> Xylella oleander

<220>
<221> CDS
<222> (1) .. (1110)
<223> RXFY01729

<400> 37

| | |
|---|-----|
| atg acc gaa ttt atc cct ccg ggc agc cta ttc cat gcg ctc tcc tct | 48 |
| Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser | |
| 1 5 10 15 | |
| cca ttt gcg atg aag cgt ggc gga caa ctc cac cac gcc cgc atc gct | 96 |
| Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala | |
| 20 25 30 | |
| tac gaa aca tgg ggc cgc ctc aat gcc agc gcc acc aat gcc att ctg | 144 |
| Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu | |
| 35 40 45 | |
| atc atg cct ggc tta tca ccc aat gca cat gcc gca cac cat gac agc | 192 |
| Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser | |
| 50 55 60 | |
| aat gct gag cca ggc tgg tgg gag tca atg cta ggt cca ggc aaa ccc | 240 |
| Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro | |
| 65 70 75 80 | |
| atc gac aca gac cgt tgg ttc gtg atc tgt gtc aac tca ctt ggt agc | 288 |
| Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser | |
| 85 90 95 | |
| gc aaa gga tcg act ggc cct gca tcg tac aac ccc atc acg cag gcc | 336 |
| Lys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala | |
| 100 105 110 | |
| atg tat cgt ttg gac ttt cca gca ctg tca atc gaa gac ggg gcc aac | 384 |
| Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn | |
| 115 120 125 | |
| gcc gca att gaa gtg gta cat gca ctg ggc atc aag caa ctt gcc agc | 432 |
| Ala Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser | |
| 130 135 140 | |
| ctg atc ggc aat tca atg ggg ggc atg acg aca ctg gcc atc ctg ctg | 480 |
| Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Thr Leu Ala Ile Leu Leu | |
| 145 150 155 160 | |
| tta cat cca gat att gcc cgc agc cac atc aac atc tca ggc agc gcg | 528 |
| Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala | |
| 165 170 175 | |
| cag gca tta ccg ttt tcc atc gcc att cgc tcg cta caa cgc gag gcg | 576 |
| Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala | |

| 180 | 185 | 190 | |
|---|-----|-----|------|
| atc cgc ctg gac ccc cat tgg aag cag gga gac tac gac gac acc cac Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Lys Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His 195 200 205 | | | 624 |
| tac ccg gaa tcg ggg cta cgc atc gca cgc aaa ctc ggg gtg atc acc Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr 210 215 220 | | | 672 |
| tac cgc tcc gcg ctg gaa tgg gac ggg cgt ttt ggc cgg gta cgc ttg Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu 225 230 235 240 | | | 720 |
| gat tcg gac caa acc aac gac aca cca ttc gga ctg gaa ttc caa att Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile 245 250 255 | | | 768 |
| gaa aac tac ttg gaa agc cat gca cac cgc ttc gtg cac acc ttc gac Glu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp 260 265 270 | | | 816 |
| cca aac tgc tac ctg tac ctg agc cgc tcc atg gac tgg ttc gac gtg Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val 275 280 285 | | | 864 |
| gcc gag tac gcc aat gga gac att ctt gcc ggg ctg gcc agg atc cga Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg 290 295 300 | | | 912 |
| atc caa cgc gca ctt gcc atc ggt agc cat acc gac atc ctc ttt cca Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro 305 310 315 320 | | | 960 |
| ata caa cag caa caa caa att gcc gaa ggg cta cgc cgt ggc ggt aca Ile Gln Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Gly Thr 325 330 335 | | | 1008 |
| cac gcc acc ttc ctg ggc ctt gac tca ccg cag gga cat gat gcg ttc His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe 340 345 350 | | | 1056 |
| tt gtg gat atc gca gga ttt ggc cct cca gtg aag gaa ttt ctg ggc Leu Val Asp Ile Ala Gly Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Gly 355 360 365 | | | 1104 |
| gaa ctg tga Glu Leu 370 | | | 1113 |
| <210> 38 | | | |
| <211> 370 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Xylella oleander | | | |
| <400> 38 | | | |
| Met Thr Glu Phe Ile Pro Pro Gly Ser Leu Phe His Ala Leu Ser Ser 1 5 10 15 | | | |
| Pro Phe Ala Met Lys Arg Gly Gly Gln Leu His His Ala Arg Ile Ala 20 25 30 | | | |

Tyr Glu Thr Trp Gly Arg Leu Asn Ala Ser Ala Thr Asn Ala Ile Leu
 35 40 45
 Ile Met Pro Gly Leu Ser Pro Asn Ala His Ala Ala His His Asp Ser
 50 55 60
 Asn Ala Glu Pro Gly Trp Trp Glu Ser Met Leu Gly Pro Gly Lys Pro
 65 70 75 80
 Ile Asp Thr Asp Arg Trp Phe Val Ile Cys Val Asn Ser Leu Gly Ser
 85 90 95
 Cys Lys Gly Ser Thr Gly Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Ile Thr Gln Ala
 100 105 110
 Met Tyr Arg Leu Asp Phe Pro Ala Leu Ser Ile Glu Asp Gly Ala Asn
 115 120 125
 Ala Ala Ile Glu Val Val His Ala Leu Gly Ile Lys Gln Leu Ala Ser
 130 135 140
 Leu Ile Gly Asn Ser Met Gly Gly Met Thr Thr Leu Ala Ile Leu Leu
 145 150 155 160
 Leu His Pro Asp Ile Ala Arg Ser His Ile Asn Ile Ser Gly Ser Ala
 165 170 175
 Gln Ala Leu Pro Phe Ser Ile Ala Ile Arg Ser Leu Gln Arg Glu Ala
 180 185 190
 Ile Arg Leu Asp Pro His Trp Lys Gln Gly Asp Tyr Asp Asp Thr His
 195 200 205
 Tyr Pro Glu Ser Gly Leu Arg Ile Ala Arg Lys Leu Gly Val Ile Thr
 210 215 220
 Tyr Arg Ser Ala Leu Glu Trp Asp Gly Arg Phe Gly Arg Val Arg Leu
 225 230 235 240
 Asp Ser Asp Gln Thr Asn Asp Thr Pro Phe Gly Leu Glu Phe Gln Ile
 245 250 255
 Leu Asn Tyr Leu Glu Ser His Ala His Arg Phe Val His Thr Phe Asp
 260 265 270
 Pro Asn Cys Tyr Leu Tyr Leu Ser Arg Ser Met Asp Trp Phe Asp Val
 275 280 285
 Ala Glu Tyr Ala Asn Gly Asp Ile Leu Ala Gly Leu Ala Arg Ile Arg
 290 295 300
 Ile Gln Arg Ala Leu Ala Ile Gly Ser His Thr Asp Ile Leu Phe Pro
 305 310 315 320
 Ile Gln Gln Gln Gln Gln Ile Ala Glu Gly Leu Arg Arg Gly Gly Thr
 325 330 335
 His Ala Thr Phe Leu Gly Leu Asp Ser Pro Gln Gly His Asp Ala Phe
 340 345 350
 Leu Val Asp Ile Ala Gly Phe Gly Pro Pro Val Lys Glu Phe Leu Gly
 355 360 365

Glu Leu
370

<210> 39
<211> 1578
<212> DNA
<213> Emericella nidulans

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1575)
<223> REN00010

<400> 39
atg agt ccg ctg aac ggc gtc gct cgt tcc ttt ccg cgg ccc ttc cag 48
Met Ser Pro Leu Asn Gly Val Ala Arg Ser Phe Pro Arg Pro Phe Gln
1 5 10 15
gcc gtg acc agg cgg cct ttt cga gtt gtc cag ccg gcc atc gcc tgt 96
Ala Val Thr Arg Arg Pro Phe Arg Val Val Gln Pro Ala Ile Ala Cys
20 25 30
ccg tcc aac agc cgg tcg ttt aac cat tct cga tca tta cga tca acg 144
Pro Ser Asn Ser Arg Ser Phe Asn His Ser Arg Ser Leu Arg Ser Thr
35 40 45
ggg tct cag tcc ccc gct cca tcc cca cgc gac tcc tcg aat ccc gcg 192
Gly Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Pro Arg Asp Ser Ser Asn Pro Ala
50 55 60
ctg tcc ttc cct tgc ctc gac gcc cag gag gcc aag tcc gct ctt ctt 240
Leu Ser Phe Pro Cys Leu Asp Ala Gln Glu Ala Lys Ser Ala Leu Leu
65 70 75 80
tcc gcg cga tct ctt ggt tca ggc cct gaa ccc tcc tat acc gcc ggc 288
Ser Ala Arg Ser Leu Gly Ser Gly Pro Glu Pro Ser Tyr Thr Ala Gly
85 90 95
cac cac gaa cga ttc cat tcc gac gaa ccg ctg ctc ctt gat tgg ggc 336
His His Glu Arg Phe His Ser Asp Glu Pro Leu Leu Leu Asp Trp Gly
100 105 110
ggt ttg ctt cca gaa ttt gat atc gca tat gag aca tgg ggc cag ctg 384
Gly Leu Leu Pro Glu Phe Asp Ile Ala Tyr Glu Thr Trp Gly Gln Leu
115 120 125
aac gag aag aag gat aat gtc att ctg ctg cat acc ggt ctg tct gca 432
Asn Glu Lys Lys Asp Asn Val Ile Leu Leu His Thr Gly Leu Ser Ala
130 135 140
tct agc cat gcg cac agc acc gaa gcg aac ccg aag ccc ggc tgg tgg 480
Ser Ser His Ala His Ser Thr Glu Ala Asn Pro Lys Pro Gly Trp Trp
145 150 155 160
gag aaa ttc ata ggt cct ggg aag acg cta gat acg gac aag tac ttt 528
Glu Lys Phe Ile Gly Pro Gly Lys Thr Leu Asp Thr Asp Lys Tyr Phe
165 170 175
gtg atc tgc acc aat gtc ctt gga ggg tgc tac ggt agc acg ggg ccc 576
Val Ile Cys Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro
180 185 190

| | |
|---|------|
| tcg acg gtg gac ccg tcg gat ggg aag aag tat gct acg cgg ttt ccc | 624 |
| Ser Thr Val Asp Pro Ser Asp Gly Lys Lys Tyr Ala Thr Arg Phe Pro | |
| 195 200 205 | |
| atc ctg aca att gaa gat atg gtg cga gcg cag ttc cgc ctt ttg gac | 672 |
| Ile Leu Thr Ile Glu Asp Met Val Arg Ala Gln Phe Arg Leu Leu Asp | |
| 210 215 220 | |
| cat ctt ggg gtt cgg aaa ctc tac gcg tcc gtc ggc tcc agc atg ggt | 720 |
| His Leu Gly Val Arg Lys Leu Tyr Ala Ser Val Gly Ser Ser Met Gly | |
| 225 230 235 240 | |
| ggg atg cag agt ctt gca gcc ggt gtt ctg ttc cca gag cga gtg ggc | 768 |
| Gly Met Gln Ser Leu Ala Ala Gly Val Leu Phe Pro Glu Arg Val Gly | |
| 245 250 255 | |
| aag att gtg tcg att agc ggt tgt gct cga agc cat ccg tac agc att | 816 |
| Lys Ile Val Ser Ile Ser Gly Cys Ala Arg Ser His Pro Tyr Ser Ile | |
| 260 265 270 | |
| act atg cgc cat acc cag cgg cag gtg ttg atg atg gat cca aat tgg | 864 |
| Ala Met Arg His Thr Gln Arg Gln Val Leu Met Met Asp Pro Asn Trp | |
| 275 280 285 | |
| gct cga ggt ttc tac tac gat tcg atc cca cct cat tca ggc atg aag | 912 |
| Ala Arg Gly Phe Tyr Tyr Asp Ser Ile Pro Pro His Ser Gly Met Lys | |
| 290 295 300 | |
| ctc gct cgc gag att gcc acc gtc acg tac cgc agc gga cca gaa tgg | 960 |
| Leu Ala Arg Glu Ile Ala Thr Val Thr Tyr Arg Ser Gly Pro Glu Trp | |
| 305 310 315 320 | |
| gag aaa cgc ttt ggt cgg aaa cgg gct gat ccg agc aaa cag cct gcg | 1008 |
| Glu Lys Arg Phe Gly Arg Lys Arg Ala Asp Pro Ser Lys Gln Pro Ala | |
| 325 330 335 | |
| ctt tgc ccc gac ttt ctc atc gag acg tat ctc gac cac gcc ggt gaa | 1056 |
| Leu Cys Pro Asp Phe Leu Ile Glu Thr Tyr Leu Asp His Ala Gly Glu | |
| 340 345 350 | |
| aaa ttc tgc ttg gaa tac gat gcc aac agc ctg ctc tac atc tcc aag | 1104 |
| Lys Phe Cys Leu Glu Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Leu Tyr Ile Ser Lys | |
| 355 360 365 | |
| gcg atg gat ctg ttt gac cta ggg ttg act cag caa ctc gcg acg aag | 1152 |
| Ala Met Asp Leu Phe Asp Leu Gly Leu Thr Gln Gln Leu Ala Thr Lys | |
| 370 375 380 | |
| aag cag agg gcg gag gcc cag gcg aag att agc agc gga aca aac act | 1200 |
| Lys Gln Arg Ala Glu Ala Gln Ala Lys Ile Ser Ser Gly Thr Asn Thr | |
| 385 390 395 400 | |
| gtc aat gat gcg tcg tgc agc ctt aca ctt cct gaa cag cca tac cag | 1248 |
| Val Asn Asp Ala Ser Cys Ser Leu Thr Leu Pro Glu Gln Pro Tyr Gln | |
| 405 410 415 | |
| gag cag cca tct gcc tcg aca tcc gcc gag cag tct gct tcc gct tca | 1296 |
| Glu Gln Pro Ser Ala Ser Thr Ser Ala Glu Gln Ser Ala Ser Ala Ser | |
| 420 425 430 | |
| gag acc ggg tcg gct ccg aac gat ctt gtt gcc ggg ctt gcg ccg ctg | 1344 |
| Glu Thr Gly Ser Ala Pro Asn Asp Leu Val Ala Gly Leu Ala Pro Leu | |
| 435 440 445 | |

aaa gac cat cag gtg ctg gta atc gga gtc gca agc gac att ctc ttc 1392
 Lys Asp His Gln Val Leu Val Ile Gly Val Ala Ser Asp Ile Leu Phe
 450 455 460

ccg gcg tgg caa cag cgc gag atc gcg gag act ctg att caa gca ggg 1440
 Pro Ala Trp Gln Gln Arg Glu Ile Ala Glu Thr Leu Ile Gln Ala Gly
 465 470 475 480

aac aag acc gtg gag cat att gag ctg ggc aac gac gtg tct ctc ttt 1488
 Asn Lys Thr Val Glu His Ile Glu Leu Gly Asn Asp Val Ser Leu Phe
 485 490 495

ggc cat gac aca ttc ctc ctt gat gtc aga acg tcg gag gcg cag ttc 1536
 Gly His Asp Thr Phe Leu Leu Asp Val Arg Thr Ser Glu Ala Gln Phe
 500 505 510

gca agt tcc gta cta gtc ggc tcg cac ata att gta caa tag 1578
 Ala Ser Ser Val Leu Val Gly Ser His Ile Ile Val Gln
 515 520 525

<210> 40

<211> 525

<212> PRT

<213> Emericella nidulans

<400> 40

Met Ser Pro Leu Asn Gly Val Ala Arg Ser Phe Pro Arg Pro Phe Gln
 1 5 10 15

Ala Val Thr Arg Arg Pro Phe Arg Val Val Gln Pro Ala Ile Ala Cys
 20 25 30

Pro Ser Asn Ser Arg Ser Phe Asn His Ser Arg Ser Leu Arg Ser Thr
 35 40 45

Gly Ser Gln Ser Pro Ala Pro Ser Pro Arg Asp Ser Ser Asn Pro Ala
 50 55 60

Leu Ser Phe Pro Cys Leu Asp Ala Gln Glu Ala Lys Ser Ala Leu Leu
 65 70 75 80

Ser Ala Arg Ser Leu Gly Ser Gly Pro Glu Pro Ser Tyr Thr Ala Gly
 85 90 95

His His Glu Arg Phe His Ser Asp Glu Pro Leu Leu Leu Asp Trp Gly
 100 105 110

Gly Leu Leu Pro Glu Phe Asp Ile Ala Tyr Glu Thr Trp Gly Gln Leu
 115 120 125

Asn Glu Lys Lys Asp Asn Val Ile Leu Leu His Thr Gly Leu Ser Ala
 130 135 140

Ser Ser His Ala His Ser Thr Glu Ala Asn Pro Lys Pro Gly Trp Trp
 145 150 155 160

Glu Lys Phe Ile Gly Pro Gly Lys Thr Leu Asp Thr Asp Lys Tyr Phe
 165 170 175

Val Ile Cys Thr Asn Val Leu Gly Gly Cys Tyr Gly Ser Thr Gly Pro
 180 185 190

Ser Thr Val Asp Pro Ser Asp Gly Lys Lys Tyr Ala Thr Arg Phe Pro
 195 200 205
 Ile Leu Thr Ile Glu Asp Met Val Arg Ala Gln Phe Arg Leu Leu Asp
 210 215 220
 His Leu Gly Val Arg Lys Leu Tyr Ala Ser Val Gly Ser Ser Met Gly
 225 230 235 240
 Gly Met Gln Ser Leu Ala Ala Gly Val Leu Phe Pro Glu Arg Val Gly
 245 250 255
 Lys Ile Val Ser Ile Ser Gly Cys Ala Arg Ser His Pro Tyr Ser Ile
 260 265 270
 Ala Met Arg His Thr Gln Arg Gln Val Leu Met Met Asp Pro Asn Trp
 275 280 285
 Ala Arg Gly Phe Tyr Tyr Asp Ser Ile Pro Pro His Ser Gly Met Lys
 290 295 300
 Leu Ala Arg Glu Ile Ala Thr Val Thr Tyr Arg Ser Gly Pro Glu Trp
 305 310 315 320
 Glu Lys Arg Phe Gly Arg Lys Arg Ala Asp Pro Ser Lys Gln Pro Ala
 325 330 335
 Leu Cys Pro Asp Phe Leu Ile Glu Thr Tyr Leu Asp His Ala Gly Glu
 340 345 350
 Lys Phe Cys Leu Glu Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Leu Tyr Ile Ser Lys
 355 360 365
 Ala Met Asp Leu Phe Asp Leu Gly Leu Thr Gln Gln Leu Ala Thr Lys
 370 375 380
 Lys Gln Arg Ala Glu Ala Gln Ala Lys Ile Ser Ser Gly Thr Asn Thr
 385 390 395 400
 Val Asn Asp Ala Ser Cys Ser Leu Thr Leu Pro Glu Gln Pro Tyr Gln
 405 410 415
 Glu Gln Pro Ser Ala Ser Thr Ser Ala Glu Gln Ser Ala Ser Ala Ser
 420 425 430
 Glu Thr Gly Ser Ala Pro Asn Asp Leu Val Ala Gly Leu Ala Pro Leu
 435 440 445
 Lys Asp His Gln Val Leu Val Ile Gly Val Ala Ser Asp Ile Leu Phe
 450 455 460
 Pro Ala Trp Gln Gln Arg Glu Ile Ala Glu Thr Leu Ile Gln Ala Gly
 465 470 475 480
 Asn Lys Thr Val Glu His Ile Glu Leu Gly Asn Asp Val Ser Leu Phe
 485 490 495
 Gly His Asp Thr Phe Leu Leu Asp Val Arg Thr Ser Glu Ala Gln Phe
 500 505 510
 Ala Ser Ser Val Leu Val Gly Ser His Ile Ile Val Gln
 515 520 525

<210> 41
 <211> 1170
 <212> DNA
 <213> Mesorhizobium loti

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1167)
 <223> NP_104621

<400> 41
 atg gcc gct ctg cgc gca gga aag acc aac aac gag gcc gac cag ccg 48
 Met Ala Ala Leu Arg Ala Gly Lys Thr Asn Asn Glu Ala Asp Gln Pro
 1 5 10 15
 tcg agc ccg gtg ttg cgc ttc ggg gcg gac aag ccg ctc aag ctc gac 96
 Ser Ser Pro Val Leu Arg Phe Gly Ala Asp Lys Pro Leu Lys Leu Asp
 20 25 30
 gcc ggc acg ctt ttg tcg ccg ttc cag atc gcc tat cag acc tac ggc 144
 Ala Gly Thr Leu Leu Ser Pro Phe Gln Ile Ala Tyr Gln Thr Tyr Gly
 35 40 45
 acg ctg aac gat gcc cgc tcc aat gcc atc ctc gtc tgc cat gcg ctg 192
 Thr Leu Asn Asp Ala Arg Ser Asn Ala Ile Leu Val Cys His Ala Leu
 50 55 60
 acc ggc gac cag cat gtc gcc aac acc aat ccg gtg acc ggc aag ccg 240
 Thr Gly Asp Gln His Val Ala Asn Thr Asn Pro Val Thr Gly Lys Pro
 65 70 75 80
 gga tgg tgg gaa gtg ctg atc ggc ccc ggc agg atc atc gac acc aac 288
 Gly Trp Trp Glu Val Leu Ile Gly Pro Gly Arg Ile Ile Asp Thr Asn
 85 90 95
 cgt ttc ttc gtc atc tgc tcc aac gtc atc ggc ggt tgt ctg ggc tcc 336
 Arg Phe Phe Val Ile Cys Ser Asn Val Ile Gly Gly Cys Leu Gly Ser
 100 105 110
 gcc ggc ccg gcc tcg acc aac ccc gcc acc ggc aag ccc tac ggg ctc 384
 Thr Gly Pro Ala Ser Thr Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Leu
 115 120 125
 gac ctg ccg gtc atc acc atc cgc gat atg gtg cgc gcg cag cag atg 432
 Asp Leu Pro Val Ile Thr Ile Arg Asp Met Val Arg Ala Gln Gln Met
 130 135 140
 ctg atc gat cat ttc ggc atc gag aaa ctg ttc tgc gtg ctc ggc ggc 480
 Leu Ile Asp His Phe Gly Ile Glu Lys Leu Phe Cys Val Leu Gly Gly
 145 150 155 160
 tcg atg ggc gga atg cag gtg ctg gaa tgg gcg tcg agc tac ccc gag 528
 Ser Met Gly Gly Met Gln Val Leu Glu Trp Ala Ser Ser Tyr Pro Glu
 165 170 175
 cgc gtc ttt tcg gca ctg ccg atc gcc acc ggc gcg cgc cat tcc tcg 576
 Arg Val Phe Ser Ala Leu Pro Ile Ala Thr Gly Ala Arg His Ser Ser
 180 185 190
 cag aac atc gcc ttc cac gag gtc ggc cgg cag gct gtc atg gcc gat 624
 Gln Asn Ile Ala Phe His Glu Val Gly Arg Gln Ala Val Met Ala Asp

| 195 | 200 | 205 | |
|---|-----|-----|------|
| ccg gac tgg cac ggc ggc aaa tat ttc gaa aac ggc aaa cgc ccg gaa Pro Asp Trp His Gly Gly Lys Tyr Phe Glu Asn Gly Lys Arg Pro Glu 210 215 220 | | | 672 |
| aag ggc ctg gcg gta gcg cgc atg gcc gcc cac ata acc tat ctg tcg Lys Gly Leu Ala Val Ala Arg Met Ala Ala His Ile Thr Tyr Leu Ser 225 230 235 240 | | | 720 |
| gaa gcc gcc ctg cac cgg aaa ttc ggc cgc aat ctg cag gat cgc gag Glu Ala Ala Leu His Arg Lys Phe Gly Arg Asn Leu Gln Asp Arg Glu 245 250 255 | | | 768 |
| gcg ctg acc ttc ggc ttc gac gcc gac ttc cag atc gaa agc tat ctg Ala Leu Thr Phe Gly Phe Asp Ala Asp Phe Gln Ile Glu Ser Tyr Leu 260 265 270 | | | 816 |
| cgc cac caa ggc atg acc ttc gtc gac cgc ttc gac gcc aat tcc tat Arg His Gln Gly Met Thr Phe Val Asp Arg Phe Asp Ala Asn Ser Tyr 275 280 285 | | | 864 |
| ctc tac atg acg cgg tcg atg gac tat ttc gac ctc gcc gcc gat cat Leu Tyr Met Thr Arg Ser Met Asp Tyr Phe Asp Leu Ala Ala Asp His 290 295 300 | | | 912 |
| ggc ggg cgg ctg gcg gat gcc ttt gcc ggc acc aaa acc cgc ttc tgc Gly Gly Arg Leu Ala Asp Ala Phe Ala Gly Thr Lys Thr Arg Phe Cys 305 310 315 320 | | | 960 |
| ctg gtg tcc ttc acc tcg gat tgg ttg ttt ccg acc gaa gag agc cgc Leu Val Ser Phe Thr Ser Asp Trp Leu Phe Pro Thr Glu Glu Ser Arg 325 330 335 | | | 1008 |
| tcg atc gtg cac gcg ctc aac gcc gcc ggc gcg tcc gtg tcc ttc gtc Ser Ile Val His Ala Leu Asn Ala Ala Gly Ala Ser Val Ser Phe Val 340 345 350 | | | 1056 |
| gaa atc gag acc gac cgc ggc cac gat gcc ttc ctg ctc gac gag ccg Glu Ile Glu Thr Asp Arg Gly His Asp Ala Phe Leu Leu Asp Glu Pro 355 360 365 | | | 1104 |
| gaa ctg ttc gcc gcc atc aac ggc ttc atc ggc tcc gcg gcg cgg gcg Glu Leu Phe Ala Ala Ile Asn Gly Phe Ile Gly Ser Ala Ala Arg Ala 370 375 380 | | | 1152 |
| aga ggg cta agc gca tga Arg Gly Leu Ser Ala 385 | | | 1170 |
| <210> 42 | | | |
| <211> 389 | | | |
| <212> PRT | | | |
| <213> Mesorhizobium loti | | | |
| <400> 42 | | | |
| Met Ala Ala Leu Arg Ala Gly Lys Thr Asn Asn Glu Ala Asp Gln Pro 1 5 10 15 | | | |
| Ser Ser Pro Val Leu Arg Phe Gly Ala Asp Lys Pro Leu Lys Leu Asp 20 25 30 | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Gly | Thr | Leu | Leu | Ser | Pro | Phe | Gln | Ile | Ala | Tyr | Gln | Thr | Tyr | Gly | 35 | 40 | 45 |
| Thr | Leu | Asn | Asp | Ala | Arg | Ser | Asn | Ala | Ile | Leu | Val | Cys | His | Ala | Leu | 50 | 55 | 60 |
| Thr | Gly | Asp | Gln | His | Val | Ala | Asn | Thr | Asn | Pro | Val | Thr | Gly | Lys | Pro | 65 | 70 | 75 |
| Gly | Trp | Trp | Glu | Val | Leu | Ile | Gly | Pro | Gly | Arg | Ile | Ile | Asp | Thr | Asn | 85 | 90 | 95 |
| Arg | Phe | Phe | Val | Ile | Cys | Ser | Asn | Val | Ile | Gly | Gly | Cys | Leu | Gly | Ser | 100 | 105 | 110 |
| Thr | Gly | Pro | Ala | Ser | Thr | Asn | Pro | Ala | Thr | Gly | Lys | Pro | Tyr | Gly | Leu | 115 | 120 | 125 |
| Asp | Leu | Pro | Val | Ile | Thr | Ile | Arg | Asp | Met | Val | Arg | Ala | Gln | Gln | Met | 130 | 135 | 140 |
| Leu | Ile | Asp | His | Phe | Gly | Ile | Glu | Lys | Leu | Phe | Cys | Val | Leu | Gly | Gly | 145 | 150 | 155 |
| Ser | Met | Gly | Gly | Met | Gln | Val | Leu | Glu | Trp | Ala | Ser | Ser | Tyr | Pro | Glu | 165 | 170 | 175 |
| Arg | Val | Phe | Ser | Ala | Leu | Pro | Ile | Ala | Thr | Gly | Ala | Arg | His | Ser | Ser | 180 | 185 | 190 |
| Gln | Asn | Ile | Ala | Phe | His | Glu | Val | Gly | Arg | Gln | Ala | Val | Met | Ala | Asp | 195 | 200 | 205 |
| Pro | Asp | Trp | His | Gly | Gly | Lys | Tyr | Phe | Glu | Asn | Gly | Lys | Arg | Pro | Glu | 210 | 215 | 220 |
| Lys | Gly | Leu | Ala | Val | Ala | Arg | Met | Ala | Ala | His | Ile | Thr | Tyr | Leu | Ser | 225 | 230 | 235 |
| Glu | Ala | Ala | Leu | His | Arg | Lys | Phe | Gly | Arg | Asn | Leu | Gln | Asp | Arg | Glu | 245 | 250 | 255 |
| Ala | Leu | Thr | Phe | Gly | Phe | Asp | Ala | Asp | Phe | Gln | Ile | Glu | Ser | Tyr | Leu | 260 | 265 | 270 |
| Arg | His | Gln | Gly | Met | Thr | Phe | Val | Asp | Arg | Phe | Asp | Ala | Asn | Ser | Tyr | 275 | 280 | 285 |
| Leu | Tyr | Met | Thr | Arg | Ser | Met | Asp | Tyr | Phe | Asp | Leu | Ala | Ala | Asp | His | 290 | 295 | 300 |
| Gly | Gly | Arg | Leu | Ala | Asp | Ala | Phe | Ala | Gly | Thr | Lys | Thr | Arg | Phe | Cys | 305 | 310 | 315 |
| Leu | Val | Ser | Phe | Thr | Ser | Asp | Trp | Leu | Phe | Pro | Thr | Glu | Glu | Ser | Arg | 325 | 330 | 335 |
| Ser | Ile | Val | His | Ala | Leu | Asn | Ala | Ala | Gly | Ala | Ser | Val | Ser | Phe | Val | 340 | 345 | 350 |
| Glu | Ile | Glu | Thr | Asp | Arg | Gly | His | Asp | Ala | Phe | Leu | Leu | Asp | Glu | Pro | 355 | 360 | 365 |

Glu Leu Phe Ala Ala Ile Asn Gly Phe Ile Gly Ser Ala Ala Arg Ala
 370 375 380

Arg Gly Leu Ser Ala
 385

<210> 43
 <211> 1155
 <212> DNA
 <213> acremonium crysogenum

<220>
 <221> CDS
 <222> (1) .. (1152)
 <223> P39058

<400> 43
 tgt cgc ctc aga tcg cca atc gct tcg agg ctt cgc tag atg ccc aag 48
 Cys Arg Leu Arg Ser Pro Ile Ala Ser Arg Leu Arg Xaa Met Pro Lys
 1 5 10 15
 aca tag cca gaa tat cgc tct tca cac tgg aat ctg gcg tca tcc ttc 96
 Thr Xaa Pro Glu Tyr Arg Ser Ser His Trp Asn Leu Ala Ser Ser Phe
 20 25 30
 gcg atg tac ccg tgg cat aca aat cgt ggg gtc gca tga atg tct caa 144
 Ala Met Tyr Pro Trp His Thr Asn Arg Gly Val Ala Xaa Met Ser Gln
 35 40 45
 ggg ata act gcg tca tcg tct gcc aca cct tga cga gca gcg ccc atg 192
 Gly Ile Thr Ala Ser Ser Ser Ala Thr Pro Xaa Arg Ala Ala Pro Met
 50 55 60
 tca cct cgt ggt ggc cca cac tgt ttg gcc aag gca ggg ctt tcg ata 240
 Ser Pro Arg Gly Gly Pro His Cys Leu Ala Lys Ala Gly Leu Ser Ile
 65 70 75 80
 cct ctc gct act tca tca tct gcc taa att atc tcg gga gcc cct ttg 288
 Pro Leu Ala Thr Ser Ser Ser Ala Xaa Ile Ile Ser Gly Ala Pro Leu
 85 90 95
 gca gtg ctg gac cat gtt cac cgg acc ccg atg cag aag gcc agc gcc 336
 Gly Val Leu Asp His Val His Arg Thr Pro Met Gln Lys Ala Ser Ala
 100 105 110
 cgt acg ggg cca agt ttc ctc gca cga cga ttc gag atg atg ttc gta 384
 Arg Thr Gly Pro Ser Phe Leu Ala Arg Arg Phe Glu Met Met Phe Val
 115 120 125
 ttc atc gcc agg tgc tcg aca ggt tag gcg tca ggc aaa ttg ctg ccg 432
 Phe Ile Ala Arg Cys Ser Thr Gly Xaa Ala Ser Gly Lys Leu Leu Pro
 130 135 140
 tag tcg gcg cat cca tgg gtg gaa tgc aca ctc tgg aat ggg cct tct 480
 Xaa Ser Ala His Pro Trp Val Glu Cys Thr Leu Trp Asn Gly Pro Ser
 145 150 155 160
 ttg gtc ccg agt acg tgc gaa aga ttg tgc cca tcg cga cat cat gcc 528
 Leu Val Pro Ser Thr Cys Glu Arg Leu Cys Pro Ser Arg His His Ala
 165 170 175
 gtc aga gcg gct ggt gcg cag ctt ggt tcg aga cac aga ggc agt gca 576

| | | |
|---|---|------|
| Val Arg Ala | Ala Gly Ala Gln Leu Gly Ser Arg His Arg Gly Ser Ala | |
| | 180 185 190 | |
| tct atg atg acc cca agt acc tgg acg ggg agt acg acg tag acg acc | | 624 |
| Ser Met Met Thr Pro Ser Thr Trp Thr Gly Ser Thr Thr Xaa Thr Thr | 195 200 205 | |
| agc ctg tcc ggg ggc tcg aaa cag cgc gca aga ttg cga atc tca cgt | | 672 |
| Ser Leu Ser Gly Gly Ser Lys Gln Arg Ala Arg Leu Arg Ile Ser Arg | 210 215 220 | |
| aca aga gca aac ctg cga tgg acg agc gct tcc ata tgg ctc cag gag | | 720 |
| Thr Arg Ala Asn Leu Arg Trp Thr Ser Ala Ser Ile Trp Leu Gln Glu | 225 230 235 240 | |
| tcc aag ccg gcc gga ata tca gca gcc agg atg cga aga agg aaa tca | | 768 |
| Ser Lys Pro Ala Gly Ile Ser Ala Ala Arg Met Arg Arg Arg Lys Ser | 245 250 255 | |
| acg gca cag aca gcg gca aca gcc acc gtg ctg gcc agc cca ttg aag | | 816 |
| Thr Ala Gln Thr Ala Ala Thr Ala Thr Val Leu Ala Ser Pro Leu Lys | 260 265 270 | |
| ccg tat ctt cct atc tcc ggt acc agg ccc aga agt ttg ccg cga gct | | 864 |
| Pro Tyr Leu Pro Ile Ser Gly Thr Arg Pro Arg Ser Leu Pro Arg Ala | 275 280 285 | |
| tcg acg cca act gct aca tcg cca tga cac tca agt tcg aca ccc acg | | 912 |
| Ser Thr Pro Thr Ala Thr Ser Pro Xaa His Ser Ser Ser Thr Pro Thr | 290 295 300 | |
| aca tca gca gag gcc ggg cag gat caa tcc cgg agg ctc tgg caa tga | | 960 |
| Thr Ser Ala Glu Ala Gly Gln Asp Gln Ser Arg Arg Leu Trp Gln Xaa | 305 310 315 320 | |
| tta cac aac cag cgt tga tca ttt gcg cca ggt cag acg gtc tgt act | | 1008 |
| Leu His Asn Gln Arg Xaa Ser Phe Ala Pro Gly Gln Thr Val Cys Thr | 325 330 335 | |
| cgt ttg acg agc acg ttg aga tgg ggc gca gta tcc caa aca gtc gtc | | 1056 |
| Arg Leu Thr Ser Thr Leu Arg Trp Gly Ala Val Ser Gln Thr Val Val | 340 345 350 | |
| ttt gcg tgg tgg aca cga atg agg gtc atg act tct ttg taa tgg aag | | 1104 |
| Phe Ala Trp Trp Thr Arg Met Arg Val Met Thr Ser Leu Xaa Trp Lys | 355 360 365 | |
| cgg aca agg tta atg atg ccg tca gag gat tcc tcg atc agt cat taa | | 1152 |
| Arg Thr Arg Leu Met Met Pro Ser Glu Asp Ser Ser Ile Ser His Xaa | 370 375 380 | |
| tgt | | 1155 |

<210> 44

<211> 384

<212> PRT

<213> acremonium crysogenum

<220>

<221> unsure

<222> 13 .. 13

<223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 18 .. 18
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 45 .. 45
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 59 .. 59
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 89 .. 89
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 137 .. 137
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 145 .. 145
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 206 .. 206
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 297 .. 297
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 320 .. 320
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 326 .. 326
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 366 .. 366
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<220>
 <221> unsure
 <222> 384 .. 384
 <223> All occurrences of Xaa indicate any amino acid

<400> 44
 Cys Arg Leu Arg Ser Pro Ile Ala Ser Arg Leu Arg Xaa Met Pro Lys

| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|-----|-----|-----|
| Thr Xaa Pro Glu Tyr Arg Ser Ser His Trp Asn Leu Ala Ser Ser Phe | 20 | 25 | 30 |
| Ala Met Tyr Pro Trp His Thr Asn Arg Gly Val Ala Xaa Met Ser Gln | 35 | 40 | 45 |
| Gly Ile Thr Ala Ser Ser Ser Ala Thr Pro Xaa Arg Ala Ala Pro Met | 50 | 55 | 60 |
| Ser Pro Arg Gly Gly Pro His Cys Leu Ala Lys Ala Gly Leu Ser Ile | 65 | 70 | 75 |
| Pro Leu Ala Thr Ser Ser Ser Ala Xaa Ile Ile Ser Gly Ala Pro Leu | 85 | 90 | 95 |
| Gly Val Leu Asp His Val His Arg Thr Pro Met Gln Lys Ala Ser Ala | 100 | 105 | 110 |
| Arg Thr Gly Pro Ser Phe Leu Ala Arg Arg Phe Glu Met Met Phe Val | 115 | 120 | 125 |
| Phe Ile Ala Arg Cys Ser Thr Gly Xaa Ala Ser Gly Lys Leu Leu Pro | 130 | 135 | 140 |
| Xaa Ser Ala His Pro Trp Val Glu Cys Thr Leu Trp Asn Gly Pro Ser | 145 | 150 | 155 |
| Leu Val Pro Ser Thr Cys Glu Arg Leu Cys Pro Ser Arg His His Ala | 165 | 170 | 175 |
| Val Arg Ala Ala Gly Ala Gln Leu Gly Ser Arg His Arg Gly Ser Ala | 180 | 185 | 190 |
| Ser Met Met Thr Pro Ser Thr Trp Thr Gly Ser Thr Thr Xaa Thr Thr | 195 | 200 | 205 |
| Ser Leu Ser Gly Gly Ser Lys Gln Arg Ala Arg Leu Arg Ile Ser Arg | 210 | 215 | 220 |
| Thr Arg Ala Asn Leu Arg Trp Thr Ser Ala Ser Ile Trp Leu Gln Glu | 225 | 230 | 235 |
| Ser Lys Pro Ala Gly Ile Ser Ala Ala Arg Met Arg Arg Arg Lys Ser | 245 | 250 | 255 |
| Thr Ala Gln Thr Ala Ala Thr Ala Thr Val Leu Ala Ser Pro Leu Lys | 260 | 265 | 270 |
| Pro Tyr Leu Pro Ile Ser Gly Thr Arg Pro Arg Ser Leu Pro Arg Ala | 275 | 280 | 285 |
| Ser Thr Pro Thr Ala Thr Ser Pro Xaa His Ser Ser Ser Thr Pro Thr | 290 | 295 | 300 |
| Thr Ser Ala Glu Ala Gly Gln Asp Gln Ser Arg Arg Leu Trp Gln Xaa | 305 | 310 | 315 |
| Leu His Asn Gln Arg Xaa Ser Phe Ala Pro Gly Gln Thr Val Cys Thr | 325 | 330 | 335 |
| Arg Leu Thr Ser Thr Leu Arg Trp Gly Ala Val Ser Gln Thr Val Val | | | |

340

345

350

Phe Ala Trp Trp Thr Arg Met Arg Val Met Thr Ser Leu Xaa Trp Lys
 355 360 365

Arg Thr Arg Leu Met Met Pro Ser Glu Asp Ser Ser Ile Ser His Xaa
 370 375 380

<210> 45

<211> 1077

<212> DNA

<213> Pseudomonas putida

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1074)

<223> AAK49778

<400> 45

atg tca act gtc ttt ccc gaa gat tcc gtc ggt ctg gta gta cgg caa 48
 Met Ser Thr Val Phe Pro Glu Asp Ser Val Gly Leu Val Val Arg Gln
 1 5 10 15

acc tcc cgg ttc gat gaa ccg ctg gca ctg gcc tgt ggc cgt tca ctg 96
 Thr Ser Arg Phe Asp Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu
 20 25 30

gcc agt tac gaa ctg gtc tac gag acc tat ggc acc ctg aac gcc agc 144
 Ala Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ser
 35 40 45

gcg agc aac gcc gtg ctg atc tgc cat gcc ctg tcc ggc cac cac cat 192
 Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His
 50 55 60

gcc gct ggc tac cat gcc gcc acc gac cgc aag ccg ggc tgg tgg gac 240
 Ala Ala Gly Tyr His Ala Ala Thr Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp
 65 70 75 80

agc tgc atc ggc ccc gga aaa ccg atc gat acc aac cgc ttc ttc gtg 288
 Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Arg Phe Phe Val
 85 90 95

gtc agc ctg aac aac ctc ggc ggc tgc aac ggc agc acc ggc ccc agc 336
 Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser
 100 105 110

agt gtc aac cca gcc acc ggt aaa ccc tat ggc gcc gag ttc ccg gta 384
 Ser Val Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Val
 115 120 125

ttg acc gtg gaa gac tgg gtg cac agc cag gca cgg ctg gcc gac cgc 432
 Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg
 130 135 140

ctg ggc atc cag cag tgg gca gct atc gtc ggc ggt agc ctg ggt ggc 480
 Leu Gly Ile Gln Gln Trp Ala Ala Ile Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly
 145 150 155 160

atg cag gcg ctg caa tgg acg atg acc tac ccc gag cgc gta cgc cac 528
 Met Gln Ala Leu Trp Thr Met Thr Tyr Pro Glu Arg Val Arg His
 165 170 175

tgc gtc gac att gcc tcg gcc ccc aag ctg tcg gcg cag aac atc gcc 576
 Cys Val Asp Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala
 180 185 190

ttc aac gag gtg gcg cgt cag gcc att ctt acc gac cct gag tac cgc 624
 Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Tyr Arg
 195 200 205

aga ggc tcg ttt cca gga cca ggt gtg atc ccc aag cgc ggc ctg atg 672
 Arg Gly Ser Phe Pro Gly Pro Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met
 210 215 220

ctg gca cgg atg gtc ggc cac att acc tat ctg tcc gat gat tcg atg 720
 Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met
 225 230 235 240

ggt gaa aaa ttc ggc cga gag ctg aaa gcg aca agc tca act acg act 768
 Gly Glu Lys Phe Gly Arg Glu Leu Lys Ala Thr Ser Ser Thr Thr Thr
 245 250 255

tcc aca gcg tcg agt tcc agg tcg aaa gct acc tgc gct atc agg gcg 816
 Ser Thr Ala Ser Ser Ser Arg Ser Lys Ala Thr Cys Ala Ile Arg Ala
 260 265 270

agg agt ttt ccg gcc gtt tcg acg cca aca cct acc ttg atg acc aag 864
 Arg Ser Phe Pro Ala Val Ser Thr Pro Thr Pro Thr Leu Met Thr Lys
 275 280 285

gca ctg gac tat ttc gac ccg gcc gcc acg cac ggt ggt gat ctg gcc 912
 Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Thr His Gly Gly Asp Leu Ala
 290 295 300

gcc acc ctg gcc cac gtc acg gcg gac tac tgc atc tgt cgt tca cca 960
 Ala Thr Leu Ala His Val Thr Ala Asp Tyr Cys Ile Cys Arg Ser Pro
 305 310 315 320

ccg act gcg ctt ctc tcc ggc ccg ttc gcg cga gat cgt cga cgc gct 1008
 Pro Thr Ala Leu Leu Ser Gly Pro Phe Ala Arg Asp Arg Arg Arg Ala
 325 330 335

gat ggc cgc gcg caa gaa cgt ctg cta cct gga gat cga ttc gcc cta 1056
 Asp Gly Arg Ala Gln Glu Arg Leu Leu Pro Gly Asp Arg Phe Ala Leu
 340 345 350

cgg gca cga tgc att tcc tga 1077
 Arg Ala Arg Cys Ile Ser
 355

<210> 46

<211> 358

<212> PRT

<213> Pseudomonas putida

<400> 46

Met Ser Thr Val Phe Pro Glu Asp Ser Val Gly Leu Val Val Arg Gln
 1 5 10 15

Thr Ser Arg Phe Asp Glu Pro Leu Ala Leu Ala Cys Gly Arg Ser Leu

M/43127

MetA

| 20 | 25 | 30 |
|--|----|----|
| Ala Ser Tyr Glu Leu Val Tyr Glu Thr Tyr Gly Thr Leu Asn Ala Ser 35 40 45 | | |
| Ala Ser Asn Ala Val Leu Ile Cys His Ala Leu Ser Gly His His His 50 55 60 | | |
| Ala Ala Gly Tyr His Ala Ala Thr Asp Arg Lys Pro Gly Trp Trp Asp 65 70 75 80 | | |
| Ser Cys Ile Gly Pro Gly Lys Pro Ile Asp Thr Asn Arg Phe Phe Val 85 90 95 | | |
| Val Ser Leu Asn Asn Leu Gly Gly Cys Asn Gly Ser Thr Gly Pro Ser 100 105 110 | | |
| Ser Val Asn Pro Ala Thr Gly Lys Pro Tyr Gly Ala Glu Phe Pro Val 115 120 125 | | |
| Leu Thr Val Glu Asp Trp Val His Ser Gln Ala Arg Leu Ala Asp Arg 130 135 140 | | |
| Leu Gly Ile Gln Gln Trp Ala Ala Ile Val Gly Gly Ser Leu Gly Gly 145 150 155 160 | | |
| Met Gln Ala Leu Gln Trp Thr Met Thr Tyr Pro Glu Arg Val Arg His 165 170 175 | | |
| Cys Val Asp Ile Ala Ser Ala Pro Lys Leu Ser Ala Gln Asn Ile Ala 180 185 190 | | |
| Phe Asn Glu Val Ala Arg Gln Ala Ile Leu Thr Asp Pro Glu Tyr Arg 195 200 205 | | |
| Arg Gly Ser Phe Pro Gly Pro Gly Val Ile Pro Lys Arg Gly Leu Met 210 215 220 | | |
| Leu Ala Arg Met Val Gly His Ile Thr Tyr Leu Ser Asp Asp Ser Met 225 230 235 240 | | |
| Gly Glu Lys Phe Gly Arg Glu Leu Lys Ala Thr Ser Ser Thr Thr Thr 245 250 255 | | |
| Ser Thr Ala Ser Ser Ser Arg Ser Lys Ala Thr Cys Ala Ile Arg Ala 260 265 270 | | |
| Arg Ser Phe Pro Ala Val Ser Thr Pro Thr Pro Thr Leu Met Thr Lys 275 280 285 | | |
| Ala Leu Asp Tyr Phe Asp Pro Ala Ala Thr His Gly Gly Asp Leu Ala 290 295 300 | | |
| Ala Thr Leu Ala His Val Thr Ala Asp Tyr Cys Ile Cys Arg Ser Pro 305 310 315 320 | | |
| Pro Thr Ala Leu Leu Ser Gly Pro Phe Ala Arg Asp Arg Arg Arg Ala 325 330 335 | | |
| Asp Gly Arg Ala Gln Glu Arg Leu Leu Pro Gly Asp Arg Phe Ala Leu 340 345 350 | | |
| Arg Ala Arg Cys Ile Ser | | |

355

<210> 47
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 47

cccgggatcc gctagcggcg cgccggcccg cccggtgtga aataccgcac ag 52

<210> 48

<211> 53

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 48

tctagactcg agcggccgcg gccggccttt aaattgaaga cgaaagggcc tcg 53

<210> 49

<211> 47

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 49

gagatctaga cccgggggatc cgctagcggg ctgctaaagg aagcgga 47

<210> 50

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 50

gagaggcgcg ccgctagcgt gggcgaagaa ctccagca 38

<210> 51

<211> 34

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 51

gagagggcgg ccgcgcaaag tcccgttcg tgaa 34

<210> 52
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 52
 gagagggcgg ccgctcaagt cggcgaagcc acgc

34

<210> 53
 <211> 140
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 53

cgaatttaa atctcgagag gcctgacgtc gggcccggta ccacgcgtca tatgactagt 60
 tcggacctag ggatatcgtc gacatcgatg ctcttctgcg ttaattaaca attgggatcc 120
 tctagaccgg ggattttaa 140

<210> 54
 <211> 140
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 54
 gatcatttaa atcccggggtc tagaggatcc caattgttaa ttaacgcaga agagcatcga 60
 tgtcgacgat atccctaggt ccgaactagt catatgacgc gtggtaccgg gcccgacgtc 120
 aggcctctcg agattttaa 140

<210> 55
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 55
 gagagcggcc gccgatcctt tttaacccat cac

33

<210> 56
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:PCR primer

<400> 56
 aggagcggcc gccatcgga ttttcttttg cg

32

<210> 57
 <211> 5091
 <212> DNA
 <213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 57

```

gccgcgactg ccttcgcgaa gccttgcccc gcggaaattt cctccaccga gttcgtgcac 60
accctatgc caagcttctt tcaccctaaa ttcgagagat tggattctta ccgtggaaat 120
tcttcgcaaa aatcgcccc tgatcgccct tgcgacgttg gcgtcgggtg ccgtgggttg 180
gcttggttg accgacttga tcagcggccg ctcgatttaa atctcgagag gcctgacgtc 240
gggcccggta ccacgcgtca tatgactagt tcggacctag ggatatcgtc gacatcgatg 300
ctcttctgcg ttaattaaca attgggatcc tctagaccgg ggatttaa atcgtagcggg 360
ctgctaaagg aagcgaaga cgtagaaagc cagtccgcag aaacgggtgct gaccccggtg 420
gaatgtcagc tactgggcta tctggacaag ggaaaacgca agcgcaaaga gaaagcagg 480
agcttgacgt gggcttacat ggcgatagct agactgggcg gttttatgga cagcaagcga 540
accggaattg ccagctgggg cgccctctgg taagggtggg aagccctgca aagtaaactg 600
gatggcttct ttgcccga ggaatctgat gcgcagggga tcaagatctg atcaagagac 660
ggatgagga tcgtttcgca tgattgaaca agatggattg cacgcagggt ctccggccgc 720
ctgggtggag aggtattcgc gctatgactg ggcacaacag acaatcggct gctctgatgc 780
cgccgtgttc cggctgtcag cgcagggggc cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc 840
cgggtgccctg aatgaactgc aggacgaggg agcgcgggcta tcgtggctgg ccacgacggg 900
cgttccttgc gcagctgtgc tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggaact ggctgctatt 960
ggcggaagtg ccggggcagg atctcctgtc atctcacctt gctcctgccg agaaagtatc 1020
catcatggct gatgcaatgc ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct gccattcga 1080
ccaccaagcg aaacatcgca tcgagcgcag acgtactcgg atggaagccg gtcttgtcga 1140
tcaggatgat ctggacgaag agcatcaggg gctcgcgcga gccgaactgt tcgccaggct 1200
caaggcgcgc atgcccgacg gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgcc 1260
gaatatcatg gtggaaaatg gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt 1320
ggcgaccgc tatcaggaca tagcgttggc taccgctgat attgctgaag agcttggcgg 1380
cgaatgggct gaccgcttcc tcgtgcttta cggtatcgcc gctcccgaat cgacgcgat 1440
cgcttcttat cgcttcttgc acgagttctt ctgagcggga ctctgggggt cgaaatgacc 1500
gaccaagcga cgcccaacct gccatcacga gatttcgatt ccaccgcgcg cttctatgaa 1560
aggttgggct tcggaatcgt tttccgggac gccggctgga tgatcctcca gcgcggggat 1620
ctcatgctgg agttcttcgc ccacgctagc ggcgcccggt ccggcccggt gtgaaatacc 1680
gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcgt caggcgctct tccgcttctt cgctcactga 1740
ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat 1800
acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaagaac atgtgagcaa aaggccagca 1860
gaggccagg aaccgtaaaa aggcgcgctt gctggcgttt tccataggc tccgcccccc 1920
acagagcat caaaaaatc gacgctcaag tcagagggtg cgaaaccgca caggactata 1980
agataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc 2040
gcttaccgga tacctgtccg ctttctctcc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc 2100
acgctgtagg tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga 2160
acccccggt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc 2220
ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag 2280
gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct acactagaag 2340
gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag 2400
ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgtggtt ttttttgttt gcaagcagca 2460
gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatccttgc atcttttcta cggggtctga 2520
cgctcagtg aacgaaaact caggttaagg gattttgggt atgagattat caaaaaggat 2580
cttcacctag atccttttaa aggcggcgcc cgcccgcgca aagtcgctg gttcgttata atggtgtcat 2700
tttcgtgccc cgtgattttc cgccaaaaac ttaacgaac gtaacatca gctatggatc tctctgatgt 2760
gaccttcacg acgaagtact aaaattggcc cgaatcatca aaaacgggtg tcggattttt 2820
cgcgctggag tcgacgcgc tcgatgctgc atcacgagac tgggccagtg ccgcgagcga 2880
ccgagctctc gatacgacgg atcttgagga gctggctgac gagctgcgtg ctccggccagc 2940
gccaggagga cgcacagtag tggaggatgc aatcagttgc gcctactgcg gtggcctgat 3000
tcctccccgg cctgacccgc gaggacggcg cgcaaaatat tgctcagatg cgtgtcgtgc 3060
cgcagccagc cgcgagcgcg ccaacaaacg ccacgcggag gagctggagg cggtagggtc 3120
gcaaatggcg ctggaagtgc gtcccccgag cgaaattttg gccatgggtc tcacagagct 3180

```

```

ggaagcggca gcgagaatta tcgcgatcgt ggcggtgccc gcaggcatga caaacatcgt 3240
aatgcccgcg tttcgtgtgc cgtggccgccc caggacgtgt cagcgccgccc accacctgca 3300
ccgaatcggc agcagcgtcg cgcgtcgaata aagcgcacag gcggcaagaa gcgataagct 3360
gcacgaatac ctgaaaaatg ttgaacgccc cgtgagcggg aactcacagg gcgtcggcta 3420
accccagtc caaacctggg agaaagcgt caaaaatgac tctagcggat tcacgagaca 3480
ttgacacacc ggcctggaaa ttttcgctg atctgttcga caccatccc gagctcgcgc 3540
tgcgatcacg tggctggacg agcgaagacc gccgcgaatt cctcgctcac ctgggcagag 3600
aaaattttcca gggcagcaag acccgcgact tcgccagcgc ttggatcaaa gaccgggaca 3660
cggagaaaca cagccgaagt tataccgagt tggttcaaaa tcgcttgccc ggtgcccagta 3720
tggtgctctg acgcacgcgc agcacgcgc cgtgcttgct ctggacattg atgtgccgag 3780
ccaccaggcc ggcgggaaaa tcgagcacgt aaaccccgag gtctacgcga ttttggagcg 3840
ctgggcacgc ctggaaaaag cgcagcgttg gatcggcgtg aatccactga gcgggaaatg 3900
ccagctcatc tggctcattg atccggtgta tgccgcagca ggcattgagca gcccgaaat 3960
gcgctgctg gctgcaacga ccgaggaaat gacccgcgtt ttcggcgtg accaggcttt 4020
ttcacatagg ctgagcgtg gccactgcac tctccgacga tcccagccgt accgctggca 4080
tgcccagcac aatcgctgg atcgctagc tgatcttatg gaggttgctc gcatgatctc 4140
aggcacagaa aaacctaaaa aacgctatga gcaggagttt tctagcggac gggcacgtat 4200
cgaagcggca agaaaagcca ctgcggaagc aaaagcactt gccacgcttg aagcaagcct 4260
gccgagcgc gctgaagcgt ctggagagct gatcgacggc gtccgtgtcc tctggactgc 4320
tccaggcgt gccgcccgtg atgagacggc ttttcgccac gctttgactg tgggatacca 4380
tttaaaagcg gctggtgagc gcctaaaaga caccaagggt catcgagcct acgagcgtgc 4440
ttacaccgtc gctcaggcgg tcggaggagg ccgtgagcct gatctgccgc cggactgtga 4500
ccgcccagac gattggccgc gacgtgtgcg cggctacgtc gctaaaggcc agccagtcgt 4560
ccctgctcgt cagacagaga cgcagagcca gccgaggcga aaagctctgg ccactatggg 4620
aagacgtggc ggtaaaaagg ccgcagaacg ctggaaaagc ccaaacagtg agtacgccc 4680
agcacagcga gaaaaactag ctaagtccag tcaacgacaa gctaggaaa gtaggaaa 4740
tcgcttgacc attgcaggtt ggtttatgac tggtgagga gagactggct cgtggccgac 4800
aatcaatgaa gctatgtctg aatttagcgt gtcacgtcag accgtgaata gagcacttaa 4860
ggctctgcgg cattgaactt ccacgaggac gccgaaagct tcccagtaaa tgtgccatct 4920
cgtaggcaga aaacggttcc cccgtagggg ctctctcttg gcctcctttc taggtcgggc 4980
tgattgctct tgaagctctc taggggggct cacaccatag gcagataacg ttccccaccg 5040
gctcgctcgt taagcgcaca aggactgctc ccaaagatct tcaaagccac t 5091

```

<210> 58

<211> 4323

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Plasmid

<400> 58

```

tctctcagcg tatggttgct gcctgagctg tagttgcctt catcgatgaa ctgctgtaca 60
ttttgatacg tttttccgct accgtcaaag attgatattt aatcctctac accgttgatg 120
ttcaaagagc tgtctgatgc tgatacgtaa acttgtagcag ttgtcagtg ttgtttgccg 180
taatgtttac cggagaaatc agtgtagaat aaacggattt ttccgtcaga tgtaaatgtg 240
gctgaacctg accattcttg tgtttggctt tttaggatag aatcatttgc atcgaatttg 300
tcgctgtctt taaagacgcg gccagcgttt tccagctgt caatagaagt ttcgccgact 360
ttttgataga acatgtaaat cgatgtgtca tccgcatttt taggatctcc ggctaatagca 420
aagacgatgt ggtagccgtg atagtgtgca acagtgcgt cagcgttttg taatggccag 480
ctgtcccaaa cgtccaggcc ttttgacaga gagatatttt taattgtgga cgaatcaaat 540
tcagaaactt gatatttttc atttttttgc tgttcagggg tttgcagcat atcatggcgt 600
gtaatatggg aatgcccgtg tgtttcctta tatggctttt gggtcgtttc tttcgcaaac 660
gcttgagttg cgcctcctgc cagcagtgcg gtagtaaagg ttaatactgt tgcttggttt 720
gcaaaacttt tgatgttcat cgttcatgtc tcttttttta tgtactgtgt tagcggctctg 780
cttcttccag cctcctgttt tgaagatggc aagttagtta cgcacaataa aaaaagacct 840
aaaatatgta aggggtgacg ccaaagtata cactttgccc tttacacatt ttaggtcttg 900
cctgctttat cagtaacaaa cccgcgcgat ttacttttgc acctcattct attagactct 960
cgtttggtt gcaactggct tattttcttc ttttggttga tagaaaatca taaaaggatt 1020
tgcagactac gggcctaaag aactaaaaaa tctatctgtt tcttttcatt ctctgtattt 1080
tttatagttt ctggtgcatg ggcataaagt tgctttttta atcacaattc agaaaatatc 1140

```

| | | | | | | |
|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------|
| ataatatctc | atttcactaa | ataatagtga | acggcaggta | tatgtgatgg | gttaaaaagg | 1200 |
| atcgccggcc | gctcgattta | aatctcgaga | ggcctgacgt | cgggcccgtg | accacgcgtc | 1260 |
| atatgactag | ttcggaccta | gggatatcgt | cgacatcgat | gctcttctgc | gttaattaac | 1320 |
| aattgggata | ctctagaccc | gggatttaaa | tcgctagcgg | gctgctaaag | gaagcgggaa | 1380 |
| acgtagaaaag | ccagtcgcga | gaaacgggtgc | tgaccccgga | tgaatgtcag | ctactgggct | 1440 |
| atctggacaa | gggaaaacgc | aagcgcgaaag | agaaagcagg | tagcttgtag | tgggcttaca | 1500 |
| tggcgatagc | tagactgggc | ggttttatgg | acagcaagcg | aaccggaatt | gccagctggg | 1560 |
| gcgcctctg | gtaaggttgg | gaagccctgc | aaagtaaact | ggatggcttt | cttgccgcca | 1620 |
| aggatctgat | ggcgcagggg | atcaagatct | gatcaagaga | caggatgagg | atcgtttcgc | 1680 |
| atgattgaac | aagatggatt | gcacgcagg | tctccggccg | cttgggtgga | gaggctattc | 1740 |
| ggctatgact | gggcacaaca | gacaatcggc | tgctctgatg | ccgccgtggt | ccggctgtca | 1800 |
| gcgcaggggc | gcccggttct | ttttgtcaag | accgacctgt | ccgggtgcct | gaatgaactg | 1860 |
| caggacgagg | cagcgcggct | atcgtagcgt | gccacgacgg | gcgttccttg | cgcagctgtg | 1920 |
| ctcgacgttg | tcactgaagc | gggaagggac | tggctgctat | tgggcgaagt | gccggggcag | 1980 |
| gatctcctgt | catctcacct | tgctcctgcc | gagaaagtat | ccatcatggc | tgatgcaatg | 2040 |
| cggcggctgc | atacgcttga | tccggctacc | tgcccatctg | accaccaagc | gaaacatcgc | 2100 |
| atcgagcgag | cacgtactcg | gatggaagcc | ggtcttgctg | atcaggatga | tctggacgaa | 2160 |
| gagcatcagg | ggctcgcgcc | agccgaactg | ttcgccaggc | tcaaggcgcg | catgcccgcg | 2220 |
| ggcgaggatc | tcgtcgtgac | ccatggcgat | gcctgcttgc | cgaatatcat | ggtggaaaaat | 2280 |
| ggccgctttt | ctggattcat | cgactgtggc | cggctgggtg | tggcggaccg | ctatcaggac | 2340 |
| atagcggttg | ctaccctgta | tattgctgaa | gagcttggcg | gcgaatgggc | tgaccgcttc | 2400 |
| tcgtgcttt | acggtatcgc | cgtccccgat | tcgacgcgca | tcgccttcta | tcgccttctt | 2460 |
| gacgagttct | tctgagcggg | actctggggg | tcgaaatgac | cgaccaagcg | acgccccacc | 2520 |
| tgccatcacg | agatttcgat | tccaccgcgc | ccttctatga | aaggttgggc | ttcggaatcg | 2580 |
| ttttccggga | cgcgcggctg | atgatectcc | agcgcgggga | tctcatgctg | gagttcttcg | 2640 |
| cccacgctag | cggcgcgcgc | gccggccccg | tgtgaaatac | cgcacagatg | cgtaaggaga | 2700 |
| aaataccgca | tcaggcgctc | ttccgcttcc | tcgctcactg | actcgctgcg | ctcggctcgt | 2760 |
| cggctgcggc | gagcgggtatc | agctcactca | aaggcggtaa | tacgggtatc | cacagaatca | 2820 |
| ggggataaac | caggaaagaa | catgtgagca | aaaggccagc | aaaaggccag | gaaccgtaaa | 2880 |
| aaggccgcgt | tgctggcggt | tttccatagg | ctccgcccc | ctgacgagca | tcacaaaaat | 2940 |
| cgacgctcaa | gtcagagggtg | gcgaaaccgc | acaggactat | aaagatacca | ggcgtttccc | 3000 |
| cctggaagct | ccctcgtgcg | ctctcctggt | ccgacctgc | cgcttacccg | atacctgtcc | 3060 |
| gcctttctcc | cttcgggaag | cgtggcgctt | tctcatagct | cacgctgtag | gtatctcagt | 3120 |
| tcgggtgtagg | tcgttcgctc | caagctgggc | tgtgtgcacg | aaccccccg | tcagcccgag | 3180 |
| cgctgcgcct | tatccggtaa | ctatcgtctt | gagtccaacc | cggtaagaca | cgacttatcg | 3240 |
| ccactggcag | cagccactgg | taacaggatt | agcagagcga | ggtatgtagg | cggtgctaca | 3300 |
| gagttcttga | agtgggtggc | taactacggc | tacactagaa | ggacagtatt | tggtatctgc | 3360 |
| gctctgctga | agccagttac | cttcggaaaa | agagttggta | gctcttgatc | cggcaaaaca | 3420 |
| accaccgctg | gtagcgggtg | tttttttggt | tgcaagcagc | agattacgcg | cagaaaaaaa | 3480 |
| ggatctcaag | aagatccttt | gatcttttct | acggggtctg | acgctcagtg | gaacgaaaaa | 3540 |
| tcacgttaag | ggattttggg | catgagatta | tcaaaaagga | tcttcacctt | gatcctttta | 3600 |
| ggcccgcc | gcggccgcca | tcggcatttt | cttttgcggt | tttatttggt | aactgttaat | 3660 |
| tccttggt | caaggatgct | gtctttgaca | acagatgttt | tcttgctttt | gatgttcagc | 3720 |
| gggaagctcg | gcgcaaacgt | tgattgtttg | tctgcgtaga | atcctctggt | tgatcatatg | 3780 |
| cttgtaatat | cgacattggt | tcctttcgct | tgaggtacag | cgaagtgtga | gtaagtaaag | 3840 |
| gttacatcgt | taggatcaag | atccattttt | aacacaaggc | cagttttggt | cagcggcttg | 3900 |
| tatgggccag | ttaaagaatt | agaaacataa | ccaagcatgt | aaatatcggt | agacgtaatg | 3960 |
| ccgtcaatcg | tcatttttga | tccgcgggag | tcagtgaaca | ggtaccattt | gccgttcatt | 4020 |
| ttaaagacgt | tcgcgcgctt | aatttcattt | gttactgtgt | tagatgcaat | cagcgggttt | 4080 |
| atcacttttt | tcagtgtgta | atcatcggtt | agctcaatca | taccgagagc | gccgtttgct | 4140 |
| aactcagccg | tgcggttttt | atcgctttgc | agaagttttt | gactttcttg | acggaagaat | 4200 |
| gatgtgcttt | tgccatagta | tgctttgtta | aataaagatt | cttcgccttg | gtagccatct | 4260 |
| tcagttccag | tgtttgcttc | aaataactaag | tatttggtgg | ctttatcttc | tacgtagtga | 4320 |
| gga | | | | | | 4323 |